

Optimization of Ultrasonic Extraction Process of Scopolamine by Response Surface Methodology

Pengpeng Chen¹, Kai Zong², Chuanxiang Fu¹, Zeyu Wu¹,
Kun Xu³, Ailing Hui¹, Wencheng Zhang¹

¹Engineering Research Center of Bio-Process from Ministry of Education, School of Food Science and Engineering, Hefei University of Technology, Hefei Anhui

²Technology Center of Anhui Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hefei Anhui

³Anhui Dexinjia Biological Medicine Co. Ltd., Fuyang Anhui

Email: 1429439950@qq.com, zwc1012@163.com

Received: Sep. 21st, 2018; accepted: Oct. 5th, 2018; published: Oct. 12th, 2018

Abstract

In this paper, the response surface method (RSM) was used to design the experiment, and the extracting process of scopolamine from *Flos daturae* was optimized by ultrasonic assisted extraction of dichloromethane extraction method. On the basis of the single variable test, the effects of the ratio of material to liquid, ultrasound power and ultrasound time were taken as the influencing factors, the Box-Behnken center combination method was used to design the 3-factor and 3-level experiment, and the response surface analysis was conducted with the scopolamine as the response value. In combination with actual operability, the optimum extraction conditions of scopolamine were determined as follows: the ratio of material to liquid was 11:1, ultrasonic power was 173 W, and ultrasonic time was 32 min. Under this optimum condition, the yield of scopolamine was 0.09843%, and the relative error with the theoretical prediction value was 0.53%, which indicated that it was reasonable and feasible to optimize the extraction process of Scopolamine.

Keywords

Flos daturae, Scopolamine, Response Surface Method, Ultrasound Extraction

响应面法优化东莨菪碱的超声提取工艺

陈朋朋¹, 宗凯², 付传香¹, 吴泽宇¹, 许坤³, 惠爱玲¹, 张文成¹

¹合肥工业大学食品科学与工程学院、农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥

²安徽出入境检验检疫局技术中心, 安徽 合肥

文章引用: 陈朋朋, 宗凯, 付传香, 吴泽宇, 许坤, 惠爱玲, 张文成. 响应面法优化东莨菪碱的超声提取工艺[J]. 化学工程与技术, 2018, 8(6): 343-350. DOI: 10.12677/hjct.2018.86045

³安徽德信佳生物医药有限公司, 安徽 阜阳
Email: 1429439950@qq.com, zwc1012@163.com

收稿日期: 2018年9月21日; 录用日期: 2018年10月5日; 发布日期: 2018年10月12日

摘要

本文以洋金花为原料, 利用响应面法对超声波辅助二氯甲烷提取东莨菪碱的工艺条件进行优化。在单因素实验的基础上, 以液料比、超声功率、超声时间为影响因素, 利用Box-Behnken中心组合方法进行3因素3水平实验设计, 以东莨菪碱的得率为响应值进行响应面分析。结合实际可操作性, 确定最佳提取条件为: 液料比11:1, 超声功率173 W, 超声时间32 min, 东莨菪碱的得率为0.09843%, 与理论预测值的相对误差为0.53%, 说明用响应面法对洋金花中东莨菪碱的超声提取过程优化合理可行。

关键词

洋金花, 东莨菪碱, 响应面设计, 超声提取

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

洋金花为茄科植物白花曼陀罗(*Datura metel* L.)的干燥花, 别名闹洋金、风茄花、曼陀罗花, 主产于江苏、福建、广东等地, 安徽亦产。现代医学证明洋金花具有平喘止咳、解痉止搐、麻醉止痛等多种功效, 东莨菪碱、莨菪碱、山莨菪碱等莨菪烷型生物碱是其主要活性成分。其中以东莨菪碱活性最高, 研究最为广泛[1]-[6]。响应面法(Response Surface Methodology, RSM)是一种条件寻优的实验方法[7] [8], 通过进行一系列设定好的实验获得实验数据, 拟合出实验结果的预测方程, 最后将函数方程以图形的方式表现出来直观地选择实验的最优参数。

本研究主要在二氯甲烷提取洋金花中东莨菪碱的基础上, 施加超声波处理, 利用超声波的空化作用、热效应、机械作用加速细胞壁的破碎, 促进胞内东莨菪碱的溶出, 缩短提取时间[9] [10]。本实验在单因素的基础上, 以液料比、超声功率、提取时间为考察因素, 以东莨菪碱得率为响应值, 用 Box-Behnken 响应面法设计实验优化东莨菪碱的提取工艺条件, 提高提取过程中东莨菪碱的得率。

2. 材料与设备

原料: 洋金花, 产自安徽德信佳生物医药有限公司洋金花种植基地。

试剂: 盐酸、氯仿、二氯甲烷等试剂均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司, 氢溴酸东莨菪碱对照品(由安徽德信佳生物医药有限公司提供, 纯度 > 98%), 水为超纯水(屈臣氏超纯水)。

仪器: 高效液相色谱仪(1260, 美国安捷伦); 电子天平(JA2003, 美国希特); 真空干燥箱(DZF-6050, 上海一恒科学仪器有限公司); 超声波处理器(SCQ-250B5, 福州迈康自动化设备有限公司); 中药粉碎机(型号 ML-800, 苏州摩菱机械设备有限公司); 旋转蒸发器(RE52CS-1, 上海亚荣生化仪器厂)。

3. 试验方法

3.1. 色谱条件

采用高效液相色谱法测定洋金花中东莨菪碱的含量。色谱条件为：色谱柱：SGE protecol C18 (5 μm , 4.6 \times 250 mm)，流动相为乙腈-0.07 mol/L 磷酸钠溶液(含 0.0175 mol/L 十二烷基硫酸钠)，用磷酸调 pH 值至 6.0 (1:2, V/V)，检测波长为 216 nm，流速 1.0 mL/min，柱温 25 $^{\circ}\text{C}$ ，进样量 20 μL [11]。

精密称取氢溴酸东莨菪碱对照品 8.1 mg (相当于东莨菪碱 5.6 mg)，用甲醇定容于 10 mL 容量瓶中，配置成相当于东莨菪碱 560 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液，以此液为母液，分别精密移取，制备梯度浓度对照品，则换算为东莨菪碱浓度后分别为 560、280、140、70、35 $\mu\text{g/mL}$ 。依照上述色谱条件依次注入高效液相色谱仪测定峰面积。

准确称取恒重东莨菪碱粗品 5 mg 定容至 10 mL 容量瓶中，0.45 μm 滤膜过滤后注入高效液相色谱仪，得到相应的峰面积值，以标准曲线计算出样液中的东莨菪碱含量。

东莨菪碱得率计算公式：东莨菪碱得率(%) = 东莨菪碱质量/洋金花干粉质量 \times %

3.2. 超声波辅助二氯甲烷提取东莨菪碱的单因素试验

3.2.1. 料液比对东莨菪碱得率的影响

取洋金花干粉，在原料与氨水质量体积比为 1:2 (g/mL)，超声功率为 180 W，提取温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ ，提取时间为 30 min 的条件下，对料液比进行单因素试验，选择液料比因素水平为：6:1、8:1、10:1、12:1、14:1。

3.2.2. 超声波功率对东莨菪碱得率的影响

取洋金花干粉，在原料与氨水质量体积比为 1:2 (g/mL)，二氯甲烷与原料液料比为 10:1，提取温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ ，提取时间为 30 min 的条件下，对超声波功率进行单因素试验，选择超声波功率因素水平为：36、72、108、144、180 W。

3.2.3. 提取时间对东莨菪碱得率的影响

取洋金花干粉，在原料与氨水质量体积比为 1:2 (g/mL)，二氯甲烷与原料液料比为 10:1，超声功率为 180 W，提取温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下，对提取时间进行单因素试验，选择提取时间因素水平为：10、20、30、40、50 min。

3.3. 响应面优化

通过单因素考察，确定影响脂质体封装率的三个主要因素，分别为液料比(X_1)，超声功率(X_2)和提取时间(X_3)，并作为独立变量进行 3 因素 3 水平响应面试验。为减小误差，采用三次重复。实验因素水平、实验设计及结果见表 1、表 2。

Table 1. Factor level and code of Box-Behnken design

表 1. Box-Behnken 设计试验因素水平及编码

变量	编码	水平和范围		
		-1	0	1
液料比(mL:mg)	X_1	10:1	11:1	12:1
超声功率(W)	X_2	144	162	180
提取时间(min)	X_3	25	30	35

Table 2. Experimental design and extraction yields of Scopolamine with RSM from *Flos daturae*
表 2. 洋金花中东莨菪碱提取工艺的响应面分析试验设计及结果

编号	X ₁	X ₂	X ₃	得率(%)
1	1	0	-1	0.08744
2	0	-1	1	0.08763
3	0	-1	-1	0.08665
4	1	0	1	0.08998
5	0	1	1	0.09547
6	1	1	0	0.09332
7	-1	1	0	0.0917
8	-1	-1	0	0.0835
9	0	1	-1	0.089
10	-1	0	-1	0.08508
11	1	-1	0	0.08606
12	-1	0	1	0.08861
13	0	0	0	0.09645
14	0	0	0	0.09626
15	0	0	0	0.09763
16	0	0	0	0.09587
17	0	0	0	0.09704

4. 实验结果

4.1. 标准曲线

以峰面积值 Y 为纵坐标, 以各有效成分的浓度值 X 为横坐标, 绘制标准曲线, 得东莨菪碱的线性回归方程 $Y = 15.845X + 62.966$, $R = 0.9999$ 。

4.2. 液料比对东莨菪碱得率的影响

由图 1 可知, 东莨菪碱得率随着提取液用量的增加而增加, 但当液料比超过 10:1 以后, 东莨菪碱得率的提升减缓。得率的增加说明提高液料比有利于东莨菪碱的溶出, 但随着液料比的增加, 超声波破碎细胞的阻力也在增加, 使细胞破碎程度下降, 降低东莨菪碱的得率。所以随着液料比的增加, 得率增加的趋势变缓。所以最佳料液比选为 10:1。

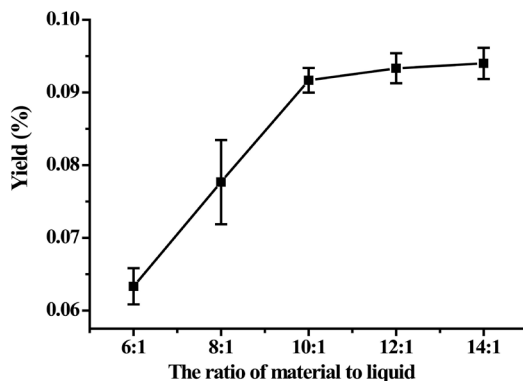


Figure 1. Effect of ratio of material to liquid on yield of scopolamine
图 1. 液料比对东莨菪碱得率的影响

4.3. 超声波功率对东莨菪碱得率的影响

由图 2 可知, 东莨菪碱得率随着超声波功率的增加而不断增加, 在 144 W 后, 这种趋势变缓。说明超声波可使原料质点在其传播空间内进入振动状态, 产生空化效应, 强化溶质扩散, 对原料可起到破碎作用, 提高东莨菪碱的溶出。同时随着超声波功率的增大, 空化效应更加剧烈, 超声波对细胞壁的破碎作用增强, 东莨菪碱的溶出速率更大。本实验由于超声波发生仪本身功率的限制, 只能验证功率在 36~180 W 之间变化时对东莨菪碱提取得率的影响。所以最佳功率选为 144 W。

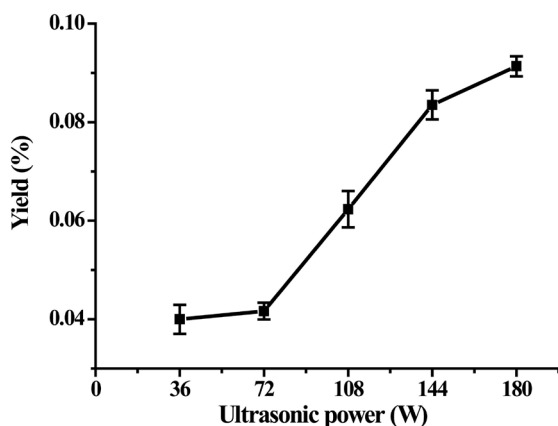


Figure 2. Effect of ultrasonic power on the yield of scopolamine
图 2. 超声波功率对东莨菪碱得率的影响

4.4. 提取时间对东莨菪碱得率的影响

由图 3 可知, 东莨菪碱得率随着提取时间的增加而增加, 当提取时间超过 30 min 后, 东莨菪碱得率的增加趋于平缓。说明随着超声时间的延长, 东莨菪碱的溶出量不断增加。但溶出量随着超声时间的增加趋于饱和, 即便继续延长超声时间溶出量的增加也不再明显。且在提取过程中发现, 当超声提取时间超过 40 min 后, 提取液中会产生大量黑色油状悬浮物, 使得提取物中杂质含量增多, 东莨菪碱纯度下降。所以最佳提取时间选为 30 min。

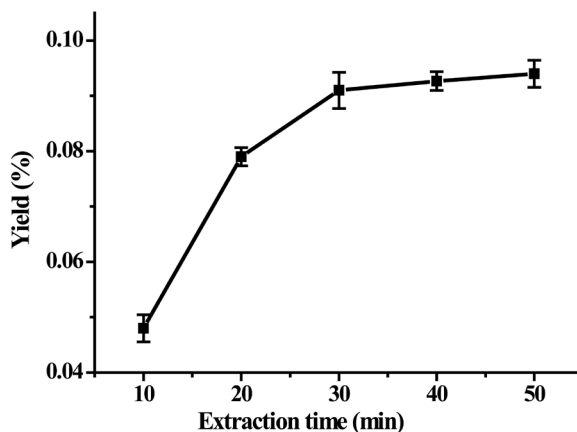


Figure 3. Effect of extraction time on the yield of scopolamine
图 3. 提取时间对东莨菪碱得率的影响

4.5. 响应面分析结果

4.5.1. 响应面优化试验设计方案及其结果

表 2 为响应面分析方案及实验结果, 运用 Design Expert 8.0.6 软件中 Box-Behnken 试验设计方法, 对影响东莨菪碱得率的单因素液料比(X_1), 超声功率(X_2), 超声时间(X_3)进行三因素三水平的响应面试验设计, 试验号 1~12 是析因试验, 试验号 13~17 是中心试验。17 个试验点分为析因点和零点, 其中析因点为自变量取值在 X_1 、 X_2 、 X_3 所构成的三维顶点; 零点为区域的中心点, 零点试验重复 5 次, 用作估计试验误差。

4.5.2. 回归模型的有效性及其显著性分析

通过 Design Expert 8.0.6 软件对数据进行方差分析, 分析结果如表 3 所示。液料比(X_1), 超声功率(X_2), 超声时间(X_3)对东莨菪碱的得率主效应明显, 且超声功率和超声时间存在交互作用。依据 F 值的大小, 各因素对得率影响程度依次为 $X_2 > X_3 > X_1$ 。同时 X_2 、 X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 各项都达到了极显著水平($P < 0.01$), X_1 、 X_2X_3 项达显著水平($P < 0.05$)。回归方程为:

$$\begin{aligned} \text{得率}(\%) = & -0.90635 + 0.11365X_1 + 0.002912X_2 + 0.007808X_3 \\ & - 0.00001306X_1X_2 - 0.00004950X_1X_3 + 0.00001525X_2X_3 \\ & - 0.004958X_1^2 - 0.000009406X_2^2 - 0.0001566X_3^2 \end{aligned}$$

回归方程的相关系数 R^2 为 0.9842, 模型($P < 0.01$)具有高度的显著性, 失拟项(0.1890 > 0.05)不具有显著性, 表明此模型对试验的拟合度好。校正决定系数 R_{Adj}^2 为 96.38%, 说明模型能解释 96.38%响应值的变化, 仅有 3.62%总变异不能用该模型解释。 R_{Pred}^2 为 0.8241, 说明该模型预测性良好。响应值的变异系数 CV 为 0.99%, 在可接受范围内, 说明模型的重复性很好。

Table 3. Variance analysis for yield of polysaccharides with various extraction condition

表 3. 方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.00035	9	0.000039	48.35	<0.0001	**
X_1	0.0000078	1	0.0000078	9.69	0.0170	*
X_2	0.000082	1	0.000082	101.93	<0.0001	**
X_3	0.000023	1	0.000023	28.32	0.0011	**
X_1X_2	0.00000022	1	0.00000022	0.274	0.6170	
X_1X_3	0.00000025	1	0.00000025	0.30	0.5987	
X_2X_3	0.0000075	1	0.0000075	9.34	0.0184	*
X_1^2	0.0001	1	0.0001	128.25	<0.0001	**
X_2^2	0.000039	1	0.000039	48.47	0.0002	**
X_3^2	0.000065	1	0.000065	79.98	<0.0001	**
残差	0.0000056	7	0.00000081			
失拟项	0.0000037	3	0.0000012	2.60	0.1890	
纯误差	0.0000019	4	0.00000048			
综合	0.00036	16				

注: **表示 $p < 0.01$, 误差极显著; *表示 $p < 0.05$, 误差显著。

4.5.3. 实验因素交互作用分析

将各因素对东莨菪碱得率的影响绘制成响应面及等高线,结果如图4所示。由图4(a)可知,东莨菪碱的得率受液料比的影响较小,受超声功率的影响较大。随着超声功率的增加,东莨菪碱的得率增加。并且可以看出液料比与超声功率交互作用较弱,与方差分析一致。

由图4(b)可以看出,在超声功率相同的情况下,东莨菪碱的得率受液料比的影响较小,受超声时间的影响较大,与超声时间成正相关。并且可以看出液料比与超声时间的相互作用最不显著。

由图4(c)可以看出,东莨菪碱的得率受超声时间和超声功率的影响较大,并且它们之间的交互作用最显著。

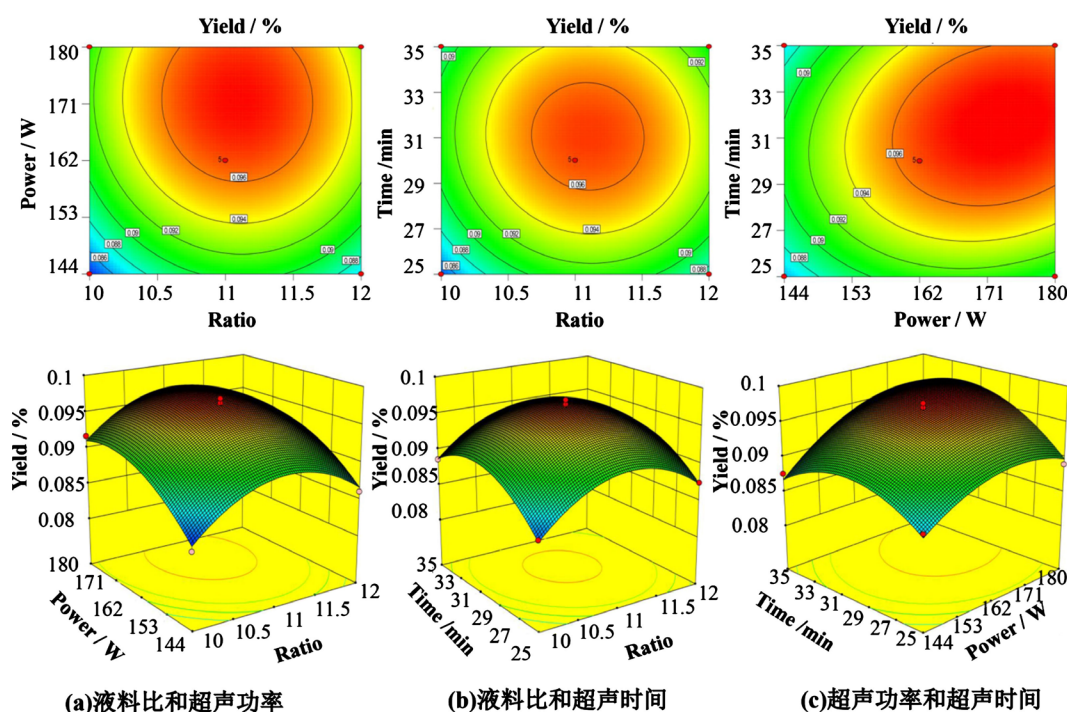


Figure 4. Response surfaces and contour maps of the interaction of every two factors to extraction rate
 图4. 各因素的交互作用对提取率影响的响应面及等高线图

4.5.4. 响应面法优化设计的验证

使用 Design-Expert 软件进行预测,得到东莨菪碱提取的最佳制备工艺条件为:液料比 11.08:1,超声功率 172.71 W,超声时间 31.52 min;考虑实际操作的便利性,将最佳工艺参数修正为:液料比 11:1,超声功率 173 W,超声时间 32 min,在此条件下进行验证试验。3次平行试验的东莨菪碱的得率平均值为 0.09843%,与理论预测值的相对误差为 0.53%。

5. 总结

本文对超声波辅助二氯甲烷提取洋金花中东莨菪碱的过程进行了响应面实验设计。在单因素的基础上,以液料比、超声功率、提取时间为考察因素,东莨菪碱得率为响应值,用 Box-Behnken 法设计提取工艺实验,建立预测方程优化提取工艺。根据优化结果及实际可操作性,确定最佳提取条件为:液料比 11:1,超声功率 173 W,超声时间 32 min,东莨菪碱的得率为 0.09843%,与理论预测值的相对误差为 0.53%,说明用响应面法对洋金花中东莨菪碱的超声提取进行优化合理可行。

基金项目

2016 年安徽省科技重大专项项目(16030801111)。

参考文献

- [1] Berkov, S., Zayed, R. and Doncheva, T. (2006) Alkaloid Patterns in Some Varieties of *Datura stramonium*. *Fitoterapia*, **77**, 179-182. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.01.002>
- [2] Klinkenberg, I. and Blokland, A. (2010) The Validity of Scopolamine as a Pharmacological Model for Cognitive Impairment: A Review of Animal Behavioral Studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **34**, 1307-1350. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.04.001>
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 267.
- [4] Yaiviada, Y. and Tabata, M. (1997) Plant Biotechnology of Tropane Alkaloids. *Plant Biotechnology*, **14**, 1-10. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.14.1>
- [5] Yun, D.-J., Hashimoto, T. and Yamada, Y. (1993) Production of Tropane Alkaloids in Genetically Engineered Root Cultures. *Phytochemistry*, **32**, 713-718. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)95159-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)95159-8)
- [6] Sramska, P., Maciejka, A., Topolewska, A., *et al.* (2017) Isolation of Atropine and Scopolamine from Plant Material Using Liquid-Liquid Extraction and EXTrelut[®] Columns. *Journal of Chromatography B*, **1043**, 202-208. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.09.003>
- [7] Vichasilp, C., Nakagawa, K., Sookwong, P., *et al.* (2009) Optimization of 1-Deoxynojirimycin Extraction from Mulberry Leaves by Using Response Surface Methodology. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **73**, 2684-2689. <https://doi.org/10.1271/bbb.90543>
- [8] 王冰嵩, 张文成, 吴泽宇, 等. 响应面法优化黄秋葵多糖提取工艺研究[J]. 包装与食品机械, 2017, 35(2): 1-5.
- [9] 万茵, 付桂明, 张丹, 等. 超声波技术提取栀子总甙醇工艺研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(3): 327-333.
- [10] 张晔, 赵晶晶, 王锴, 等. 超声波辅助提取辣椒红色素[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(1): 71-74.
- [11] 张俐, 王玉. HPLC 法测定洋金花中东莨菪碱的含量[J]. 首都医药, 2007, 14(8): 47-48.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8844, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjcet@hanspub.org