

响应面法优化超声提取八角茴香油工艺

凌静娜,陈定玲,金礼国,李莹,蒋成君

(浙江科技学院 生物与化学工程学院,杭州 310023)

摘要: 利用响应面法对超声提取八角茴香油的工艺进行优化,在单因素实验的基础上,根据中心组合设计原理,采用三因素三水平的响应面分析法,依据回归分析确定最优提取工艺条件。选取超声提取时液料比和温度为随机因子。结果表明,八角茴香油超声提取的最佳工艺条件为:提取时间 45 min,提取温度 28 ℃,液料比(mL/g)为 54 : 6。采用该工艺条件,八角茴香油的提取率可达到 14.54%。验证试验值为 14.40%,与理论值相对误差为 0.96%。

关键词: 响应面分析法;八角茴香油;超声波提取

中图分类号: TQ654.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-8798(2009)02-0110-05

Optimization of ultrasonic extraction of star aniseed oil by using response surface method

LING Jing-na, CHEN Ding-ling, JIN Li-guo, LI Ying, JIANG Cheng-jun

(School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China)

Abstract: Based on the single factor experiment, the response surface method with three factors at three levels is adopted according to the principle of central compages design. The factors of optimum conditions for the extraction will be determined by regression analysis. We choose the time of extraction, the ratio of solvent to material and temperature as random fators. The result showed that the optimum conditions for the ultrasonic extraction are as follows: the time of extraction is 45 min, the temperature is 28 ℃ and the ratio of solvent to material is 54 : 6(mL/g). Under the optimum conditons, the extraction yield of star aniseed oil from star aniseed is 14.54% while the experimental data is 14.40% with relative error 0.96% compared with theoretical value.

Key words: response surface method; star aniseed oil; ultrasonic extraction

八角茴香油是一种无色至淡黄色液体,具有八角茴香特有的香气,广泛用于医药、化工等领域。通过臭氧氧化八角茴香油可以制取价值更高的茴香醛^[1-2],随着臭氧氧化技术的发展,八角茴香油将会

有更大的应用前景。涂久洁等^[3]采用溶剂萃取法提取八角茴香油,得到了茴香油的结晶;陆志科等^[4]比较了回流提取、水蒸气蒸馏、快速提取法分离八角茴香油,结果表明快速提取法效率高且快速简便,在最

收稿日期: 2009-05-08

作者简介: 凌静娜(1986—),女,浙江余姚人,05级制药工程本科生;通讯作者:蒋成君(1981—),男,浙江富阳人,工程师,博士,主要从事药物合成的教学和研究。

佳工艺条件下,产品收率达 12.78%;龚丽芬等^[5]比较了用索氏提取和冷浸取法提取八角茴香油的效果,发现索氏提取的效果优于冷浸法;逯家辉等^[6]采用响应面法对八角茴香油提取工艺进行优化,在最优条件下八角茴香油的收率为 10.56%;徐善述等^[7]则详细介绍了用水蒸气蒸馏法来制取大茴香油的工业生产方法,产品的收率在 4%~6%;郭勇等^[8]用超临界 CO₂ 萃取八角茴香油,得率可达 12%。溶剂浸提法存在提取时间长、温度高的缺点;超临界萃取法设备昂贵,萃取压力高,且受超临界流体对物质溶解度的局限;而超声波辅助浸提法则主要利用超声波具有机械效应、空穴化效应、热效应,以及乳化、扩散、击碎等次级效应,增加细胞壁的通透性,增加介质的穿透力和介质分子的运动速度,促进有效成分的溶出,具有操作简单、浸提温度低、提取率高和提取时间短的优点,目前广泛应用于活性成分的提取方面,但在提取茴香脑的研究中未见报道。响应面(RSA)法是采用多元二次回归方法作为函数估计的工具,研究因子与响应值之间、因子与因子之间的相互关系,是统计设计实验技术的合成,采用合理的实验设计,能以最经济的方式、用很少的时间对实验进行全面的研究。本研究在单因素实验的基础上,采用响应面法优化超声波强化浸取工艺,旨在为茴香脑的提取寻找新的有效的工艺途径,以期八角茴香油的工业生产提高产率提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验原料、试剂与仪器

原料:八角茴香。主要试剂:乙醇、石油醚、乙酸乙酯、乙醚,国产分析纯。主要仪器:超声波清洗器(型号 AS2060B,天津奥特赛恩斯仪器有限公司),旋转蒸发仪(型号 RE-501,余姚市工业仪表二厂),粉碎机(型号 DFY-500,温岭市大德中药材器械厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品预处理 将八角茴香用高速万能粉碎机粉碎,烘干,待用。

1.2.2 八角茴香油提取工艺 精密称取一定量的八角茴香粉末样品,加入一定量的溶剂,采用超声波强化浸取工艺,提取物在 40℃下用旋转蒸发仪蒸发,蒸去溶剂,产物中加入 50 mL 蒸馏水,再加入等体积乙醚进行萃取,有机相转入蒸馏装置,将乙醚蒸馏完全,馏分为八角茴香油。

1.2.3 八角茴香油得率的计算 计算公式如下:

八角茴香油得率(%) = $\frac{\text{八角茴香油质量}}{\text{八角茴香质量}} \times 100\%$

1.2.4 响应面法优化八角茴香油提取工艺 在单因素实验的基础上,应用 Box-Behnken 中心组合进行三因素三水平的实验设计(取 $\alpha=2$),见表 1。以八角茴香油得率为响应值,进行响应面分析,优化八角茴香中八角茴香油超声波提取条件(因设备限制,无法考察超声功率对提取的影响)。

表 1 实验因素及水平

Table 1 Factors and levels of RSM analysis			
水平	提取时间 (Z ₁)/min	提取温度 (Z ₂)/℃	液料比 (Z ₃)/(mL·g ⁻¹)
-1	30	20	50/6
0	40	25	60/6
1	50	30	70/6

2 结果与分析

2.1 提取溶剂对八角茴香油得率的影响

不同溶剂对八角茴香中八角茴香油得率的影响不同,在提取时间为 1 h,液料比(mL/g,全文同)为 50:6 的条件下,八角茴香油得率如图 1 所示。可见采用乙酸乙酯作为溶剂,八角茴香油的得率最高。

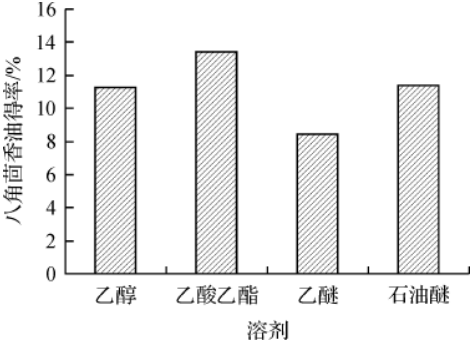


图 1 溶剂对八角茴香油得率的影响

Fig.1 Effect of solvent on yield of star anise oil

八角茴香油中的主要成分是茴香醚,质量分数为 80%~90%,此外还有茴香醛、甲基胡椒酚、茴香酸、茴香酮、蒎烯等多种化合物^[9-10]。从溶剂极性分析,乙醇>乙酸乙酯>乙醚>石油醚,根据实验结果,不是极性最大的乙醇,也不是极性最弱的石油醚对茴香油的萃取效果最好,而是乙酸乙酯对茴香油的萃取效果最好。分析认为这是由于茴香油中主要成分的极性与乙酸乙酯的极性相近的缘故,乙醇的极性太强,而乙醚容易延壁挥发,不适合作溶剂。

2.2 提取时间对得率的影响

采用乙酸乙酯为溶剂,液料比为 50:6,分别考察提取时间为 10,20,30,40,50,60 min 时八角茴香

油的得率,结果如图 2 所示。由图 2 可以看出,得率随着时间的延长呈逐渐上升趋势,提取时间达 40 min 后,八角茴香油得率最高。

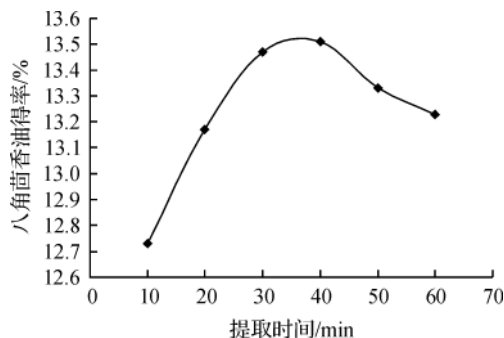


图 2 提取时间对八角茴香油得率的影响

Fig.2 Effect of extracting time on yield of star anise oil

在通常条件下,随着提取时间的延长,萃取率会不断提高。在超声波萃取中,萃取时间 40 min 后萃取率反而下降,分析认为是在超声条件下,前 40 min 超声波对细胞破坏最大,得率最高;但是,当时间超过 40 min 后,一些化合物分解形成低沸的物质,挥发到大气中,从而导致萃取率的下降。

2.3 液料比对八角茴香油得率的影响

采用乙酸乙酯为溶剂,提取时间为 40 min,分别考察液料比为 30:6,40:6,50:6,60:6,70:6,80:6,90:6 时对八角茴香油得率的影响,结果如图 3 所示。由图 3 可以看出,开始时八角茴香油得率随着液料比的增加而增加,而当液料比达到 60:6 时,八角茴香油得率达到最高,当液料比大于 60:6 时,得率反而下降,所以最适的提取液料比为 60:6。分析认为这是因为在液料比小于 60:6 时,溶剂对茴香的溶解为主要因素,溶剂越多,茴香在溶剂内越分散,受到的超声越强,从而提取率增加;而当液料比大于 60:6 时,超声强度为主要因素,此时茴香在溶剂内的分散已增加不多,而溶剂量增加导致茴香受到的超声强度减小,从而使香油提取率降低。

2.4 提取温度对得率的影响

采用乙酸乙酯为溶剂,提取时间为 40 min,液料比为 60:6,考察提取温度为 10,15,20,25,30,35 °C 时对八角茴香油得率的影响,结果如图 4 所示。由图 4 可以看出,开始时八角茴香油得率随提取温度的升高而增大,到 25 °C 时达到最大,而超过 25 °C 后,得率反而下降,因此选择 25 °C 为提取的最佳温度。大多数物质的溶解度随温度的升高而增大,但温度太高,会使油分解或挥发而造成损失。

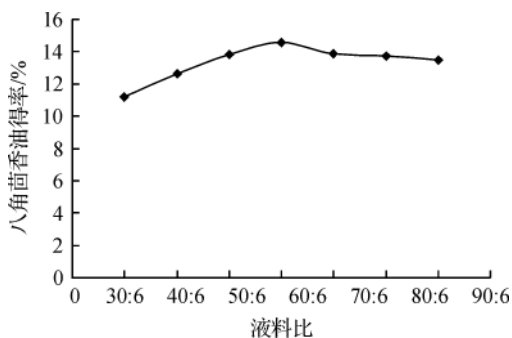


图 3 提取液料比对八角茴香油得率的影响

Fig.3 Effect of the ratio of solvent to solid on yield of star anise oil

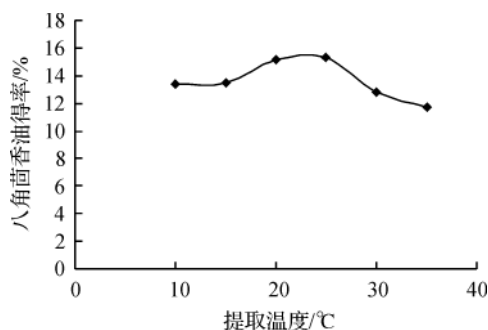


图 4 提取温度对八角茴香油得率的影响

Fig.4 Effect of extracting temperature on yield of star anise oil

2.5 响应面分析法优化八角茴香油超声波提取的条件

在单因素实验的基础上,采用 Box-Behnken 中心组合进行三因素三水平的实验设计,见表 2。 $X_1 = (Z_1 - 40)/10$, $X_2 = (Z_2 - 25)/5$, $X_3 = (Z_3 - 60/6)/(10/6)$ 为自变量,以八角茴香油得率 Y 为响应值,采用 SAS RSREG 程序进行响应面分析实验。

表 2 响应面实验设计方案及实验结果

Table 2 Experiment design and results of RSM

实验号	X_1	X_2	X_3	八角茴香油得率 Y_i /%
1	-1	-1	0	12.14
2	-1	1	0	13.84
3	1	-1	0	14.06
4	1	1	0	14.13
5	0	-1	-1	13.16
6	0	-1	1	13.42
7	0	1	-1	14.31
8	0	1	1	13.19
9	-1	0	-1	12.76
10	1	0	-1	14.20
11	-1	0	1	13.38
12	1	0	1	13.23
13	0	0	0	14.30
14	0	0	0	14.26
15	0	0	0	14.32

如表 2 所示,设计了 15 个实验点,1~12 为析因实验,13~15 为中心实验,用来估计实验误差,SAS RSREG 回归结果见表 3。因子经过回归拟合,解得回归方程为:

$$Y=14.293\ 3+0.437\ 5X_1+0.336\ 2X_2-0.151\ 2X_3-0.439\ 2X_1^2-0.407\ 5X_1X_2-0.311\ 7X_2^2-0.397\ 5X_1X_3-0.345\ X_2X_3-0.461\ 7X_3^2$$

表 3 回归分析结果

Table 3 Results of regression analysis

方差来源	DF	SS	MS	F	$P_{F>F}$
X_1	1	1.53	1.53	33.22	0.004 4
X_2	1	0.90	0.90	19.62	0.006 8
X_3	1	0.18	0.18	3.97	0.102 9
X_1^2	1	0.71	0.71	15.45	0.011 1
X_1X_2	1	0.66	0.66	14.41	0.012 7
X_2^2	1	0.36	0.36	7.78	0.038 5
X_1X_3	1	0.63	0.63	13.71	0.014 0
X_2X_3	1	0.48	0.48	10.33	0.023 6
X_3^2	1	0.79	0.79	17.07	0.009 1
回归	9	6.01	0.67	14.49	0.004 4
一次项	3	2.62	0.87	2.65	0.100 8
二次项	3	1.62	0.54	11.72	0.010 6
交互项	3	1.77	0.59	2.55	0.128 6
残差	5	0.23	0.046		

回归方程中各变量对响应值影响的显著性用 F 检验来判定,概率 $P(F>F^{\alpha})$ 值越小,则相应变量的显著程度越高, $P(F>F^{\alpha})<0.01$ 时影响为高度显著, $P(F>F^{\alpha})<0.05$ 影响显著。由表 3 的分析结果可以看出,模型回归 P 为 0.004 4,说明模型回归显著可靠。提取时间 X_1 、提取温度 X_2 和液料比 X_3 的平方项对八角茴香油的得率影响高度显著;而 X_1 的平方项、 X_2 的平方项、 X_1X_2 的交互项、 X_2X_3 的交互项和 X_1X_3 的交互项影响显著。模型的回归系数 $R^2=0.963\ 1$,说明模型响应值(八角茴香油得率)的变化 96.31% 来自所选因变量,即提取时间、提取温度和液料比的值。因此,回归方程可以较好地描述随机因子与响应值之间的关系,可以利用该回归方程确定最佳提取工艺条件。对回归方程取一阶偏导数等于零,整理可得到如下三式:

$$0.437\ 5-0.878\ 4X_1-0.407\ 5X_2-0.397\ 5X_3=0$$

(1)

$$0.336\ 2-0.407\ 5X_1-0.623\ 4X_2-0.345\ X_3=0$$

(2)

$$0.151\ 2+0.397\ 5X_1+0.345\ X_2+0.923\ 4X_3=0$$

(3)

式(1)、(2)、(3)联立方程解得, $X_1=0.519\ 6$,

$X_2=0.521\ 8$, $X_3=-0.582\ 3$ 。根据编码值与非编码值的转换式解得 $Z_1=45\ \text{min}$, $Z_2=28\ ^\circ\text{C}$, $Z_3=54:6$ 。因此用超声波提取八角茴香的最佳工艺条件为:提取时间为 45 min,提取温度为 28 $^\circ\text{C}$,液料比为 54:6。由回归方程可得八角茴香油最高得率理论值可达到 14.54%。

通过多元回归方程所作的响应曲面图及其等高线图(图 5~7),所拟合的响应曲面和等高线图能比较直观地反映各因素和各因素间的交互作用。由图 5~7 可以看出,3 个响应曲面均为开口向下的凸形曲面, X_1 、 X_2 和 X_3 3 个因素与八角茴香油的得率呈抛物线关系,且在考察范围内存在响应值(八角茴香油得率)的极高值。

2.6 茴香油提取率的响应面分析

响应面图形是响应值 Y 对应于实验因素 X_1 、 X_2 、 X_3 所构成的三维空间的曲面图及其在二维平面上的等高线图,它可直观反映各因素及它们之间的交互作用对响应值的影响。将一个因素固定在零水平,利用 Design Expert 软件即可作出另外两因素交互作用的响应曲面图及等高线图,见图 5~6。

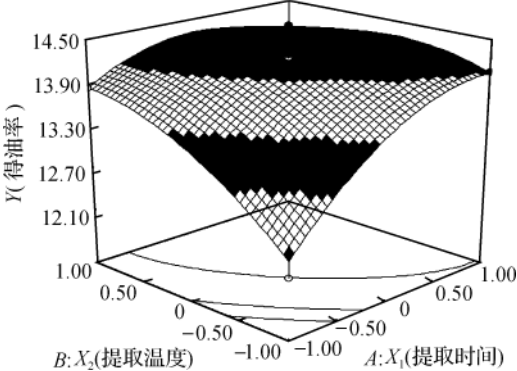


图 5 $Y=f(X_1,X_2)$ 的响应面图和等高线图

Fig.5 Responsive surfaces and contours of $Y=f(X_1,X_2)$

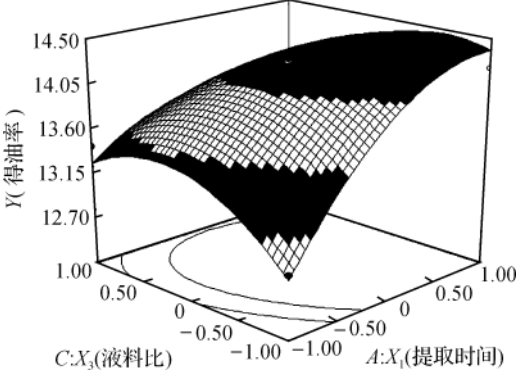


图 6 $Y=f(X_1,X_3)$ 的响应面图和等高线图

Fig.6 Responsive surfaces and contours of $Y=f(X_1,X_3)$

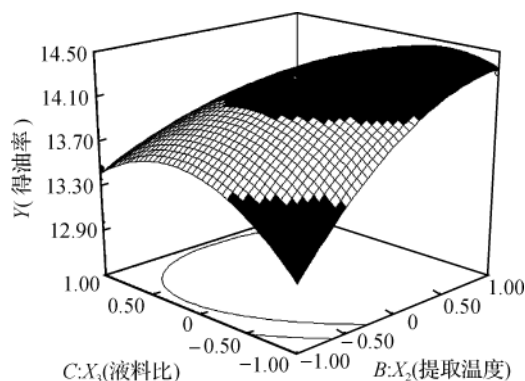


图 7 $Y=f(X_2, X_3)$ 的响应面图和等高线图

Fig.7 Responsive surfaces and contours of $Y=f(X_2, X_3)$

图 5 为固定液料比为 54:6 的情况下,不同提取温度与提取时间条件下,所得到的茴香油的提取率。由图 5 可知,提取温度和提取时间对提取率的影响非常显著,曲面较陡。当 X_1 在 -0.540 和 0.740 之间, X_1 越大,提取率就越大,随后逐渐平稳;当 X_2 在 -0.55 与 0.70 之间, X_2 越大,提取率也越大,这主要与温度提高,提取物的溶解度就越大有关。而且,提取温度和提取时间的交互作用对提取率影响较大,这主要是因为虽然在高温下提取率增加,但是茴香油和乙酸乙酯都易挥发,温度越高,挥发程度就越大,当温度达到一定,茴香油的提取率就几乎不变,而时间越长,则挥发程度越大,则最后得到的茴香油将会变少。根据响应面搜索出 2 个因素最适水平: $X_1=0.5196$, $X_2=0.5218$ 。

图 6 固定提取温度为 28℃,液料比对茴香油提取率有一定的影响,但是从图中可以看出,液料比的影响没有提取时间那么大,这对应了上面分析结果。图 7 也是如此。且液料比、提取时间和提取温度的交互影响也没有那么大。

2.7 验证实验

在响应面分析法求得的最佳条件下,对八角茴香油进行 5 次平行提取试验,结果见表 4。由表 4 可知,验证值与回归方程所预测值相吻合得很好。

表 4 验证试验结果 ($n=5$)

Table 4 Results of validation experiments ($n=5$) %					
试验号	1	2	3	4	5
得率	14.33	14.67	14.88	13.90	14.22
平均得率	14.40				
RSD	2.67				
理论得率	14.54				
相对误差	0.96				

3 结 语

在单因素实验的基础上,进行三因素三水平的中心组合设计,采用响应面分析法对实验结果进行了分析。分析结果表明,提取时间 X_1 、提取温度 X_2 和液料比 X_3 的平方项对八角茴香油的得率影响高度显著;而 X_1 的平方项、 X_2 的平方项、 $X_1 X_2$ 的交互项和 $X_1 X_3$ 交互项影响显著。茴香油得率响应方程的回归分析和验证实验表明,此方法合理可行。对响应回归方程进行一阶偏导数等于零求出最优的提取条件:提取时间为 45 min,提取温度为 28℃,液料比为 54:6,八角茴香油最高得率理论值可达到 14.54%。验证值为 14.40%,相对误差为 0.96%。与传统方法相比较,超声波法大大缩短了提取时间,而且提高了有效成分的提取率,节约了物料和溶剂,提高了经济效益,是一种极具应用前景的方法。

参考文献:

- [1] 高蓉,李稳宏,李冬,等.八角茴香油臭氧氧化制备茴香醛工艺研究[J].食品科学,2008,29(6):174-177.
- [2] 易封萍,邹德正,李飘英,等.八角茴香油和肉桂油的臭氧氧化反应研究[J].广西科学院学报,1999,15(2):49-51.
- [3] 涂久洁,徐乐辉,施敏龙.八角茴香油的实验室提取方法[J].抚州师专学报,2002,21(2):28-29.
- [4] 陆志科,黎深.快速提取分离八角茴香油的新方法[J].福建林业科技,2007,34(1):5-8.
- [5] 龚丽芬,胡东红,潘小芳,等.乙醇提取八角茴香油工艺的研究[J].泉州师范学院学报,2002,20(2):66-69.
- [6] 逮家辉,李国庆,张华飞,等.八角茴香油提取工艺优化[J].农业工程学报,2008,24(6):254-257.
- [7] 徐善述,杨洪珍.浅谈三种茴香油及工业生产方法[J].天津化工,2003,7(4):32-36.
- [8] 郭勇,缪剑华,雷衍国,等.正交实验优选八角茴香油的超/亚临界 CO_2 萃取工艺[J].天然产物研究与开发,2008,20(1):142-149.
- [9] 郭勇,雷衍国,缪剑华.气相色谱-质谱联用分析亚临界二氧化碳流体萃取八角茴香油的化学成分[J].时珍国医国药,2008,19(4):803-806.
- [10] 康文艺,刘瑜新,史凤阁,等.八角茴香挥发油提取工艺研究[J].河南大学学报,2008,27(2):6-10.