

## 基于响应面法的甘松挥发油提取工艺优化研究

杨祎辰<sup>1,2</sup>, 王二欢<sup>2</sup>, 王继强<sup>2</sup>, 党艳妮<sup>2</sup>, 唐茜琳<sup>1</sup>, 常晖<sup>2</sup>, 靳鹏博<sup>2</sup>, 马存德<sup>2\*</sup>

(1. 陕西国际商贸学院, 陕西咸阳 712046; 2. 陕西步长制药有限公司, 陕西西安 710075)

**摘要** [目的]优化甘松挥发油的提取工艺。[方法]通过单因素试验考察粒径、料液比、浸泡时间和提取时间对甘松挥发油含量的影响, 选定工艺参数和变化水平。采用 Box-Behnken 响应面法, 以甘松挥发油含量为评价指标, 建立数学回归模型。[结果]粒径 527  $\mu\text{m}$ 、料液比 1:10.2(g:mL)、提取时间 10.9 h 为最佳提取工艺, 挥发油含量为 4.12%。[结论]在该条件下甘松挥发油提取稳定、可靠。

**关键词** 甘松; 挥发油; 响应面法; 提取工艺; 优化

**中图分类号** R 284.2 **文献标识码** A

**文章编号** 0517-6611(2022)08-0152-04

**doi**: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.08.042

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



### Study on Optimization of Extraction Process of Volatile Oil from *Nardostachyos Radix et Rhizoma* Based on Response Surface Methodology

YANG Yi-chen<sup>1,2</sup>, WANG Er-huan<sup>2</sup>, WANG Ji-qiang<sup>2</sup> et al (1. Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xianyang, Shaanxi 712046; 2. Shaanxi Buchang Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an, Shaanxi 710075)

**Abstract** [Objective] To optimize the extraction process of volatile oil of *Nardostachyos Radix et Rhizoma*. [Method] The single factor experiment was used to investigate the influence of particle size, solid-liquid ratio, soaking time and extraction time on the volatile oil content of *Nardostachyos Radix et Rhizoma*, and the process parameters and change levels were selected. The Box-Behnken response surface method was used to establish a mathematical regression model with the volatile oil content of *Nardostachyos Radix et Rhizoma* as the evaluation index. [Result] 527  $\mu\text{m}$  particle size, 1:10.2(g:mL) solid-liquid ratio, and 10.9 h extraction time were the best extraction processes. Under these conditions, the volatile oil content was 4.12%. [Conclusion] Under this condition, the extraction of volatile oil from *Nardostachyos Radix et Rhizoma* was stable and reliable.

**Key words** *Nardostachyos Radix et Rhizoma*; Volatile oil; Response surface methodology; Extraction process; Optimization

甘松为败酱科植物甘松(*Nardostachys jatamansi* DC.)的干燥根及根茎,其味辛、甘,性温,外用祛湿消肿,内服则有理气止痛、开郁醒脾之功效<sup>[1]</sup>,其既是藏药,又为我国传统中药材。甘松药用历史悠久,首载于陈藏器的《本草拾遗》<sup>[2]</sup>。李时珍<sup>[3]</sup>称其“产于川西松洲,其味甘”,故而得名甘松,又名甘松香、香松。松洲,即今松潘县,为四川省阿坝藏族羌族自治州辖县。挥发油是辛味中药最主要的化学成分类型<sup>[4]</sup>。甘松药材中含有大量挥发性成分,其中以萜类化合物为主,既可药用,亦作香料。甘松挥发油具有抗肿瘤、抑菌、抗炎、抗心律失常和保护心肌细胞等作用<sup>[5]</sup>。当前对甘松挥发油的大量研究主要集中在挥发油成分的 GC-MS 分析及抗心律失常机制等,而关于甘松挥发油提取工艺的报道较少。帕依曼·亥米提等<sup>[6]</sup>采用  $L_9(3^4)$  正交试验设计对甘松挥发油提取工艺进行优选,结果表明最佳提取工艺条件为粗粉、加 8 倍量水、提取 6 h。邱国旺等<sup>[7]</sup>采用单因素试验对甘松挥发油提取的不同因素进行研究,得出最佳工艺为投料量 70%、加 8 倍量水、提取 10 h。刘英慧<sup>[8]</sup>采用  $L_9(3^4)$  正交试验设计优选甘松挥发油得出的最佳提取工艺条件为加水量为 10 倍量、提取时间 10 h、不浸泡。基于上述研究结果,该研究以甘松药材为原料,参照《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2020 年版(四部)通则 2024 挥发油测定法(甲法)

提取其挥发油组分,通过单因素试验考察提取工艺参数,利用响应面设计法对甘松挥发油的最佳提取工艺进行优化,以期甘松药材挥发油的提取提供数据支持,也为甘松资源的合理开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 供试甘松药材为步长制药甘肃药源基地移栽品(种源来自四川红原县),经陕西步长制药有限公司马存德主任药师鉴定为败酱科植物甘松(*Nardostachys jatamansi* DC.)。

**1.2 试剂与仪器** 98-I-C 数显控温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);高速多功能粉碎机(上海市天祺盛世科技有限公司);5、10、24、35、100 目标标准检验筛(绍兴市上虞华丰五金仪器有限公司);娃哈哈饮用纯净水。

## 1.3 方法

**1.3.1 甘松挥发油提取。**参照《中国药典》2020 年版(四部)通则 2024 挥发油测定法(甲法)测定甘松挥发油含量,并计算供试品的挥发油含量:

$$\text{挥发油含量} = \frac{\text{甘松挥发油体积}(\text{mL})}{\text{甘松药材粉末量}(\text{g})} \times 100\%$$

**1.3.2 工艺参数的筛选及优化。**以挥发油提取率为评价指标,采用单因素试验,分别考察粒径、料液比(g:mL)、浸泡时间和提取时间 4 个因素(表 1)对甘松挥发油提取工艺的影响。根据单因素试验结果,选定考察因素及其变化水平,采用 Design Expert 11 软件中的 Box-Behnken 响应面设计方法,设计试验方案。以甘松挥发油含量为评价指标,建立数学回归模型,对现行的甘松挥发油提取工艺进行优化。

**基金项目** 陕西省重点研发计划(2022SF-575);2019 年医疗服务与保障能力提升补助资金项目(财社[2019]39 号)。

**作者简介** 杨祎辰(1990—),男,陕西宝鸡人,主管中药师,硕士,从事药用植物资源与利用研究。\*通信作者,副主任药师,从事中药标准化栽培与管理、中药资源及鉴定研究。

**收稿日期** 2021-07-20

表 1 单因素试验设计

Table 1 Single factor experimental design

水平 Level	因素 Factor			
	粒径 Particle size $\mu\text{m}$	料液比 Solid-liquid ratio	浸泡时间 Soaking time//h	提取时间 Extraction time//h
1	4 000	1:6	0	4
2	2 000	1:8	2	6
3	850	1:10	4	8
4	500	1:12	6	10
5	150	1:14	8	12

**1.3.3 验证试验。**验证试验为确定该工艺的优劣和稳定性,考虑到试验误差和实际生产,在上述试验的基础上,按筛选的最佳提取工艺条件进行重复验证试验 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验筛选影响因素与水平

**2.1.1 粒径对甘松挥发油含量的影响。**分别称定不同粒径的甘松样品 26.25 g,控制挥发油提取条件为料液比 1:8 (g:mL)、浸泡时间 0 h、提取时间 6 h,考察粒径对甘松挥发油含量的影响,结果见图 1。从图 1 可以看出,随着粒径的减小,甘松挥发油含量先急剧增加后缓慢下降,在粒径为 500  $\mu\text{m}$ 时,甘松挥发油含量最高,为 4.41%。

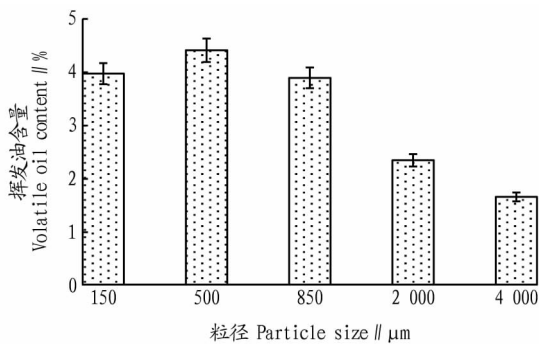


图 1 粒径对甘松挥发油含量的影响

Fig.1 Effect of particle size on the volatile oil content of Nardostachyos Radix et Rhizoma

**2.1.2 料液比对甘松挥发油含量的影响。**控制甘松挥发油提取条件为粒径 500  $\mu\text{m}$ 、浸泡时间 0 h、提取时间 6 h,同时固定加水量为 210 mL,依次称定相应的甘松样品适量,考察料液比对甘松挥发油含量的影响,结果见图 2。从图 2 可以看出,随着料液比的降低,甘松挥发油含量大体呈现出先增加后下降的趋势,在料液比为 1:10 时,甘松挥发油含量最高,为 4.23%。

**2.1.3 浸泡时间对甘松挥发油含量的影响。**分别称定过 35 目筛的甘松样品 21.00 g (粒径 500  $\mu\text{m}$ ),控制甘松挥发油提取条件为料液比 1:10、提取时间 6 h,考察浸泡时间对甘松挥发油含量的影响,结果见图 3。从图 3 可以看出,随着浸泡时间的延长,甘松挥发油含量变化不大,在浸泡时间 8 h 时,甘松挥发油含量最高,为 4.44%,较浸泡时间 0 h 时提高 1.60%。

**2.1.4 提取时间对甘松挥发油含量的影响。**分别称定过 35 目筛的甘松样品 21.00 g (粒径 500  $\mu\text{m}$ ),控制甘松挥发油提

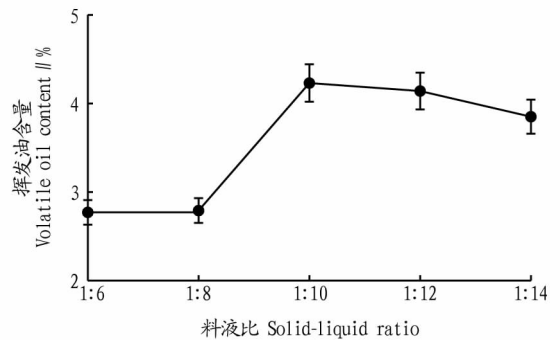


图 2 料液比对甘松挥发油含量的影响

Fig.2 Effect of solid-liquid ratio on the volatile oil content of Nardostachyos Radix et Rhizoma

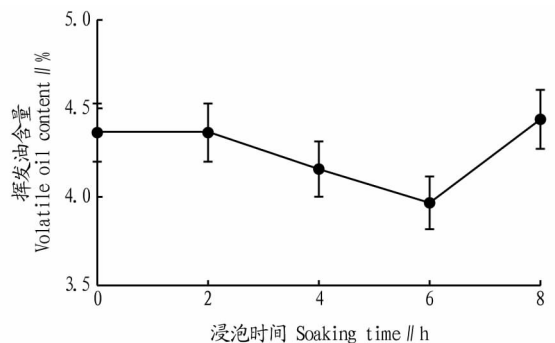


图 3 浸泡时间对甘松挥发油含量的影响

Fig.3 Effect of soaking time on the volatile oil content of Nardostachyos Radix et Rhizoma

取条件为料液比 1:10、浸泡时间 0 h,考察提取时间对甘松挥发油含量的影响,结果见图 4。从图 4 可以看出,随着提取时间的延长,甘松挥发油含量呈现先增加后下降的趋势,在提取时间为 10 h 时,甘松挥发油含量最高,为 4.41%。

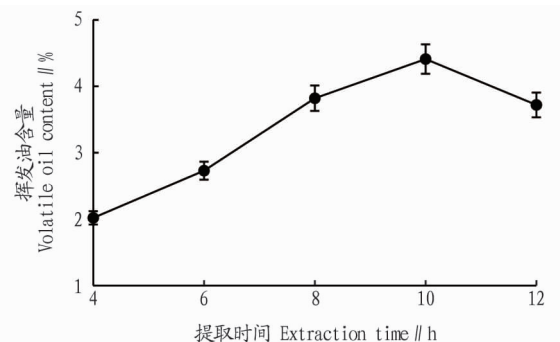


图 4 提取时间对甘松挥发油含量的影响

Fig.4 Effect of extraction time on the volatile oil content of Nardostachyos Radix et Rhizoma

**2.2 响应面法优化挥发油提取工艺** 基于甘松挥发油提取的单因素试验结果,结合实际生产条件与成本,筛选出粒径 ( $X_1$ )、液料比 ( $X_2$ ) 和提取时间 ( $X_3$ ) 3 个因素,采用 Box-Behnken 响应面设计 3 因素 3 水平试验方案,共 15 组试验点,以综合考虑甘松挥发油提取过程中的工艺参数。试验因素与水平见表 2,试验设计与结果见表 3。

采用 Design Expert 11 软件对表 3 中的数据进行二次多元回归拟合,得到挥发油含量 ( $Y$ ) 与粒径 ( $X_1$ )、料液比 ( $X_2$ )、

提取时间( $X_3$ )之间的回归方程  $Y=4.09+0.110 0X_1+0.131 2X_2+0.088 7X_3-0.127 5X_1X_2+0.017 5X_1X_3+0.025 0X_2X_3-0.657 5X_1^2-0.585 0X_2^2-0.100 0X_3^2$ 。由方程可知,各因素对甘松挥发油含量的影响大小排序为  $X_2>X_1>X_3$ ,即料液比>粒径>提取时间。对上述回归模型进行方差分析,结果发现,该模型  $P=0.000 5<0.01$ ,说明该响应面回归模型极显著,且模型失拟项  $P=0.235 1>0.05$  不显著,说明方程对试验拟合较好。模型中  $X_1、X_2、X_3、X_1X_2、X_1^2、X_2^2$  项具有显著性,表明各个自变量与因变量的线性关系较为明显,对各因素绘制曲面图和等高线图,更能直观地反映各因素对响应值的影响以及最优条件下各因素的取值结果,详见图 4。

表 2 Box-Benhknen 响应面试验因素与水平

Table 2 Factors and levels of Box-Benhknen response surface test

水平 Level	$X_1$ (粒径 Particle size// $\mu\text{m}$ )	$X_2$ (料液比 Solid-liquid ratio)	$X_3$ (提取时间 Extraction time//h)
-1	850	1: 8	8
0	500	1:10	10
1	150	1:12	12

表 3 Box-Benhknen 响应面试验设计与结果

Table 3 Experimental design and results of Box-Benhknen response surface

序号 No.	$X_1$	$X_2$	$X_3$	挥发油含量 Volatile oil content // %
1	-1	-1	0	2.48
2	1	-1	0	3.05
3	-1	1	0	2.90
4	1	1	0	2.96
5	-1	0	-1	3.18
6	1	0	-1	3.27
7	-1	0	1	3.36
8	1	0	1	3.52
9	0	-1	-1	3.18
10	0	1	-1	3.49
11	0	-1	1	3.27
12	0	1	1	3.68
13	0	0	0	4.14
14	0	0	0	4.02
15	0	0	0	4.11

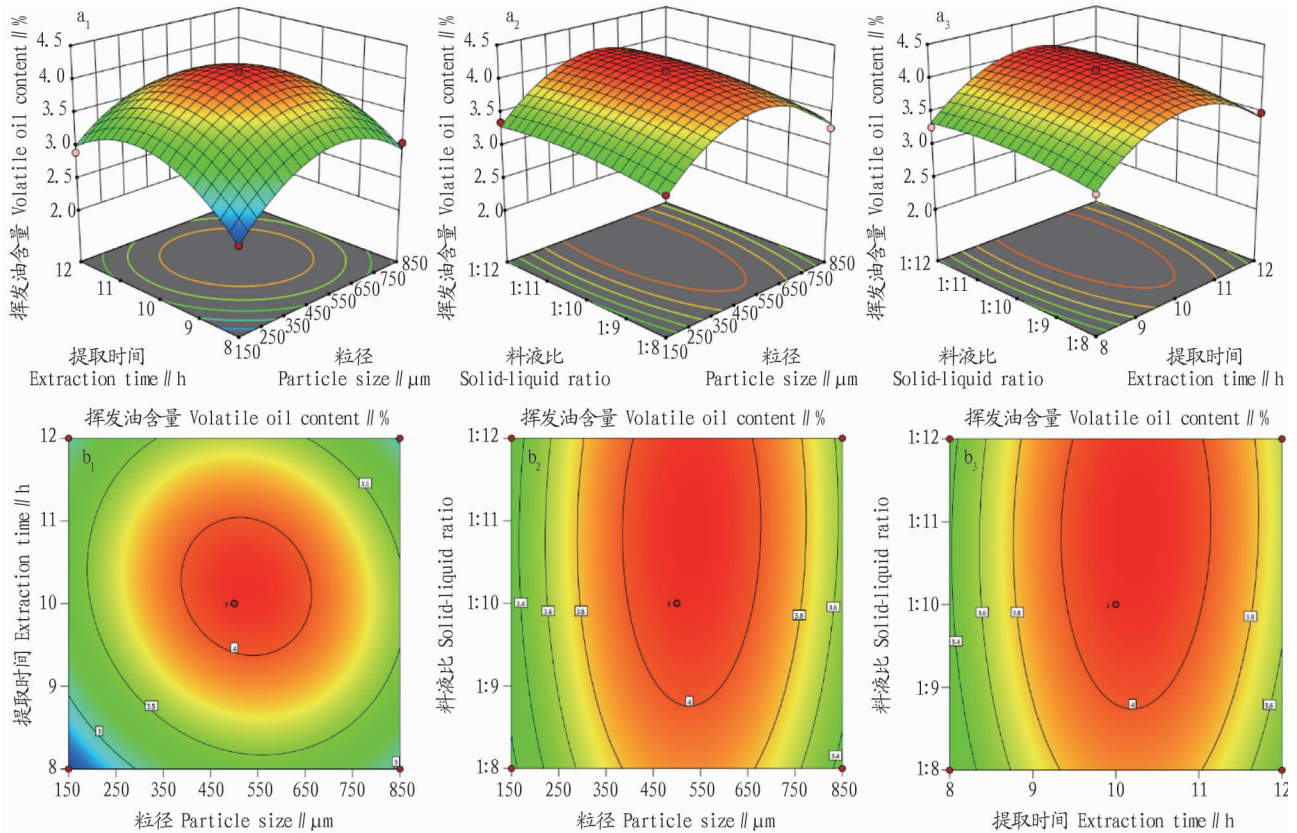


图 5 各因素交互作用的曲面图(a)和等高线图(b)

Fig.5 Surface plot(a) and contour plot (b) of the interaction of various factors

根据 Box-Benhknen 响应面优化设计试验结果和拟合的回归方程,采用 Design Expert 11 软件拟合后得到最优挥发油提取工艺参数为粒径 527  $\mu\text{m}$ 、料液比为 1:10.2、提取时间 10.9 h,在此条件下得到的挥发油含量为4.12%。

2.3 工艺验证 为验证响应面法所得结果的可靠性,确定该工艺的优劣和稳定性,同时考虑到试验的可操作性和便捷

性,精密称定甘松样品 26.25 g,重复 3 次。选择挥发油提取工艺参数为粒径 500  $\mu\text{m}$ 、料液比 1:10、提取时间 10 h。分别计算挥发油含量,平均值为 3.95% (RSD=2.98%,  $n=3$ )。

3 结论与讨论

近年来,关于甘松药材挥发油含量的测定及成分分析等方向的文献报道不多,但对于挥发油含量的表达方式不统



一。例如挥发油得率、挥发油收率<sup>[9]</sup>、挥发油体积分数<sup>[10]</sup>、收油率及百分含量,其实际计算方式均与《中国药典》2020年版(四部)通则 2024 挥发油测定法中的挥发油含量相同。《中国药典》明确指出,挥发油含量是挥发油量与供试药材质量的比值(mL:g),甘松的挥发油含量不得少于 2.0%(mL:g),而该研究中测试的甘松样品所含挥发油高于药典标准。考虑到此次研究所用的甘松样品为移栽品,故生长年限高于野生品。挥发油为植物的次生代谢产物,随着生长年限的延长,次生代谢产物含量的积累亦会增加。张宇霞等<sup>[10]</sup>通过对不同批次的栽培、野生及市售甘松药材的挥发油含量进行对比测定,结果显示各批次甘松挥发油的体积分数为 2.0%~5.2%,并且栽培品的挥发油含量明显高于野生及市售品。余海清等<sup>[11]</sup>通过对四川甘孜州不同产地甘松药材的挥发油进行含量测定分析,结果发现不同产地甘松挥发油含量存在差异,并且与产地气候环境、药材生长年限等因素有关。这均与该研究结果保持一致。

甘松是唯一被现行版《中国药典》收录的败酱科植物,多分布于青藏高原地区如甘南、阿坝及果洛等州。甘松药材的市场供给完全来源于野生资源,随着野生甘松的不断采挖,导致药材价格逐年上涨。虽然《中国药典》中规定甘松的入药部位为根及根茎,但市面上流通的甘松药材往往以全草形式流通。当地政府亦通过监督手段,对甘松药材的采挖及分布的草场进行保护,以期实现甘松野生资源的可持续利用。但通过在甘南、阿坝和果洛等州的实地调查,甘松野生资源的恢复情况及资源现状仍不容乐观。

(上接第 146 页)

的结论一致。

色泽是柠檬干的重要特征品质之一,褐变不仅降低柠檬干的感官品质,更可能意味着使其滋味遭到破坏和营养成分流失,甚至产生有毒有害物质。切片厚度、温度和护色剂都是影响柠檬干褐变的重要因素,该研究结果表明,在柠檬干加工处理过程中,切片厚度宜选择 3 mm,干燥温度在 70 ℃最佳,不同护色剂护色效果依次为柠檬酸>L-半胱氨酸>CaCl<sub>2</sub>>植酸。护色作为食品加工的一项关键性技术,被广泛应用于各类食品加工领域,是今后的研究重点。该研究主要从褐变度角度分析探讨了各外界因素对柠檬干色泽的影响,其他因素以及内部因素如柠檬本身含有的有机酸对酶促褐变的影响有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 张懋,廖红梅.果蔬食品加工贮藏过程中易变色素的降解及调控机理研究与展望[J].中国食品学报,2011,11(9):258-267.
- [2] 毕大同.果蔬加工过程中的褐变及护色措施[J].农业与技术,2018,38(23):22-23.
- [3] THINH B B,TRONG L V,LAM L T,et al.Nutritional value of persimmon, banana,lemon and longan cultivated in Northern Vietnam[J].IOP conference series:Earth and environmental science,2021,640(2):1-8.
- [4] 庞宇辰,李远志,乔倩,等.柠檬片干燥特性研究及进展[C]//“健康与安全”学术研讨会暨 2015 年广东省食品学会年会论文集.广州:广东省食品学会,2015:194-197.
- [5] YU L M,LIAO Z Q,ZHAO Y P,et al.Metabolomic analyses of dry lemon slice during storage by NMR [J].Food frontiers,2020,1(2):180-191.

当前,由于《中国药典》中对甘松药材的生长年限没有规定,亦未实行有效的甘松药材规格等级标准,从而导致牧民采挖甘松完全按照市场行情进行;另一方面,甘松作为芳香类药材,常被作为挥发油的提取材料,而甘松药材提取后的药渣及废弃物却未能再进行有效的利用,这无疑是对资源的极大破坏和浪费。因此,该研究参照《中国药典》提取甘松挥发油,通过单因素试验考察提取工艺参数,利用响应面设计法对甘松挥发油的最佳提取工艺进行优化,规范甘松挥发油提取的技术路线,以期为甘松药材挥发油的提取提供数据支持,也为甘松资源的合理开发利用提供理论依据。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020 年版 一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:87-88.
- [2] 陈藏器.本草拾遗[M].合肥:安徽科学技术出版社,2002:95-96.
- [3] 李时珍.本草纲目[M].北京:中国中医药出版社,1998:373.
- [4] 姚俊宏,蒋秋冬,陈军,等.21 种辛味中药挥发油透皮促渗效果的药性规律分析[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(1):1-7.
- [5] 南笑珂,张鲁,罗琳,等.中药甘松化学成分与药理作用的研究进展[J].中国现代中药,2018,20(10):1312-1318.
- [6] 帕依曼·亥米提,古丽斯坦·阿吾提.正交实验法优选甘松挥发油提取工艺[J].新疆中医药,2007,25(5):7-8.
- [7] 邱国旺,王超,蔡良.甘松挥发油提取及包合工艺研究[J].广东化工,2017,44(20):59-60.
- [8] 刘英慧.甘松质量标准及挥发油提取包合工艺的研究[D].长沙:中南大学,2012:37-39.
- [9] 邱琴,刘廷礼,崔兆杰,等.甘松挥发油的提取及其化学成分剖析[J].山东大学学报(自然科学版),1999,34(2):192-197.
- [10] 张宇霞,马世震,冯海生.不同产地甘松挥发油及浸出物的含量测定[J].时珍国医国药,2015,26(2):318-319.
- [11] 余海清,彭克忠,何超群,等.四川甘孜州不同产地甘松药材的挥发油成分分析[J].安徽农业科学,2019,47(20):199-203.

- [6] LEE H S,NAGY S.Quality changes and nonenzymic browning intermediates in grapefruit juice during storage [J].Journal of food science,1988,53(1):168-172.
- [7] 李小平,李鸿雁.果品加工中褐变的类型及预防措施[J].中国果菜,2017,37(12):11-13.
- [8] 黎惠兰,方新文.果蔬制品色泽的褐变及其控制[J].江西食品工业,2004(1):34-36.
- [9] LITVIN S,MANNHEIM C H,MILTZ J.Dehydration of carrots by a combination of freeze drying,microwave heating and air or vacuum drying[J].Journal of food engineering,1998,36(1):103-111.
- [10] 朱春华,龚琪,李进学,等.柠檬干片制作过程及贮藏期间颜色变化[J].浙江农业学报,2013,25(3):630-634.
- [11] 曾顺德,张超,张迎君,等.柠檬干片高效褐变抑制剂筛选[J].食品科学,2008,29(5):212-213.
- [12] 王蓉蓉,丁胜华,李高阳,等.柠檬片热风干燥特性及品质研究[J].食品科技,2016,41(5):48-53.
- [13] 王玉玲,李海滨.柠檬片真空冷冻干燥工艺初探[J].保鲜与加工,2011,11(4):23-26.
- [14] 李清明,谭兴和,王锋,等.速冻双孢蘑菇护色工艺研究[J].食品工业科技,2007,28(3):160-162.
- [15] 常婷婷,张欣,熊伟成,等.柠檬片热风干燥工艺参数优化[J].农产品加工(学刊),2013(16):34-37.
- [16] 邓其海,侯小楨,丁心,等.包装形式和贮藏条件对柠檬冻干片在贮藏过程中色泽变化的影响[J].安徽农业科学,2016,44(33):77-79.
- [17] 葛帅,徐海山,丁胜华,等.切片厚度对柠檬片热风干燥特性及相关品质的影响研究[J].农产品加工,2019(13):1-4,8.
- [18] 马永强,魏婧,王鑫,等.蓝莓汁抗坏血酸体系非酶褐变反应动力学[J].食品科学,2016,37(1):109-113.
- [19] 闵婷,谢君,郑梦林,等.果蔬采后酶促褐变的机制及控制技术进展[J].江苏农业科学,2016,44(1):273-276.
- [20] 李鹤,林洪斌,安都,等.响应曲面法优化柠檬干片护色剂配方的研究[J].中国酿造,2015,34(7):97-100.