

## Box-Behnken 响应面法优化江西产薄荷挥发油提取工艺及其动力学研究

张小飞<sup>1,2</sup>, 万娜<sup>3</sup>, 詹娟娟<sup>3</sup>, 罗云<sup>3</sup>, 王学成<sup>3</sup>, 吴司琪<sup>3</sup>, 伍振峰<sup>3</sup>

(1. 成都中医药大学, 四川 成都 610075; 2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712000; 3. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004)

**摘要:**目的: 应用效应面法优化江西产薄荷挥发油提取工艺, 并建立其提取动力学模型方程。方法: 通过 Box-Behnken 响应面分析法优化, 通过对提取工艺参数优化: 浸泡时间( $X_1$ ), 提取时间( $X_2$ ) 和药液比( $X_3$ ) 为考察对象, 以提取率( $Y$ ) 为评价指标, 利用 Box-Behnken 效应面法优化薄荷挥发油提取工艺, 并采用动力学模型对其提取过程数据进行拟合。结果: 优化后的最佳工艺为浸泡时间 1.51 h, 提取时间 7.68 h, 料液比 1:10, 最佳提取工艺下的动力学方程为  $V=0.9003(1-e^{-0.00996t})$  ( $R^2=0.9982$ ) 和  $\ln(0.904-V)=-0.0097t-0.174$  ( $R^2=0.9979$ )。结论: 提取薄荷挥发油工艺采用 Box-Behnken 效应面法优化方法可行, 提取动力学模型可以较好表达挥发油的提取过程。

**关键词:** 挥发油; 薄荷; Box-Behnken 响应面法; 动力学

**中图分类号:** R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-842X(2016)05-0065-05

### Box - Behnken Response Surface Method Optimization Peppermint from Jiangxi Essential Oil Extraction Technology and Its Dynamics Research

ZHANG Xiaofei<sup>1,2</sup>, WAN Na<sup>3</sup>, ZHAN Juanjuan<sup>3</sup>, LUO Yun<sup>3</sup>, WANG Xuecheng<sup>3</sup>, WU Siqi<sup>3</sup>, WU Zhenfeng<sup>3</sup>

(1.Chengdu University of Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan, China;

2.Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi, China;

3.Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, Jiangxi, China)

**Abstract:** *Objective:* Application of response surface method optimization peppermint essential oil extraction process, and to establish its dynamic model to extract equation. *Methods:* Through the Box-Behnken response surface method optimization, through optimization of extraction process parameters: soak time ( $X_1$ ), extraction time ( $X_2$ ) and liquid ratio ( $X_3$ ) as the study object, with extraction yield ( $Y$ ) as the evaluation index. Box-Behnken effect surface method was used to optimize peppermint essential oil extraction technology, and USES the dynamic model of the extraction process of fitting the data. *Results:* The best technology optimized for soaking time 1.51 h, extracting time 7.68 h, material liquid than 1:10, under the best extraction process of dynamic equation for  $V = 0.9003(1 - e^{-0.00996t})$  ( $R^2 = 0.9982$ ) and  $\ln(0.904 - V) = -0.0097t - 0.174$  ( $R^2 = 0.9979$ ). *Conclusion:* Extracted from mint with volatile oil Box - Behnken response surface method optimization method is feasible and extraction dynamics model can better express the extraction process of volatile oil.

**Keywords:** volatile oil; mint; Box-Behnken response surface method; dynamics

薄荷是唇形科植物,具有散风热、透疹、清头利目之功效<sup>[1-2]</sup>。由于薄荷属植物分布广、生态适应幅度大、自然杂交现象普遍以及有性和无性繁殖并存,使薄荷属植物种内在形态和化学上都产生很多变异,导致提取的薄荷油成分也有差异<sup>[3]</sup>,目前薄荷挥发油提取主要围绕着左旋薄荷脑,但对以主要成分为氧化胡椒酮的江西、安徽产的薄荷挥发油提取研究较少,因此对江西产薄荷挥发油的提取工艺进行

研究。提取挥发油最常用的是水蒸气蒸馏法<sup>[4]</sup>。以往的实验研究对薄荷挥发油的提取常采用单因素和正交设计,但存在着不能在给出的整个区域上找到因素和响应值之间的一个明确函数表达式即回归方程,从而无法找到整个区域上因素的最佳组合和响应值的最优值等方面问题。响应面法具有重复性好、提取效率高、条件参数准确可靠等优点<sup>[5]</sup>。挥发油提取主要是通过实验室试验,确定最佳方案,与实际

收稿日期: 2015-10-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(81560657); 江西省卫生计生中医药科研计划项目(2014A011); 江西省青年科学基金项目(20142BAB215063)

作者简介: 张小飞(1982-),男,内蒙赤峰人,讲师,博士研究生,研究方向: 中药新技术与新剂型研究。

通讯作者: 伍振峰(1982-),男,江西九江人,讲师,博士,研究方向: 中药新制剂研究。E-mail: zfwu527@163.com。



微信公众号: lnzyydxxb (或扫左侧二维码关注)

投稿平台: <http://lzx.cbpt.cnki.net>

生产条件相去甚远,加之对提取过程的机理和动态特征缺乏深入研究,对工程放大和优化生产并无直接指导意义<sup>[6-7]</sup>。因此本文采用Box-Behnken响应面法优化了水蒸气蒸馏提取了薄荷挥发油的工艺并对其提取动力学进行研究,考察其提取最佳工艺的同时,以期为实验的工艺放大及工业化生产提供依据和参考。

## 1 材料与与方法

### 1.1 仪器与设备

分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司,京制,编号00000246);中药粉碎机(北京寰亚天元机械技术有限公司,型号:6202);挥发油提取器;KDM型控温电热套(鄞城华鲁电热仪器有限公司);冷凝管;药典筛(浙江省上虞市道墟张兴纱筛厂)。

### 1.2 材料与试剂

乙醚、双重蒸馏水;薄荷(购自江西樟树天齐堂中药饮片有限公司)。

### 1.3 薄荷挥发油的提取工艺

按2010年版《中华人民共和国药典》一部附录XD的挥发油测定方法进行测定,自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶时为止,电热套缓缓加热至沸,取薄荷研磨成一定粒度后,取50 g放入1000 mL圆底烧瓶中,置烧瓶中,加一定量的水与玻璃珠数粒,振摇混合后,连接挥发油测定器与回流冷凝管。自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶时为止。置电热套中或用其他适宜方法缓缓加热至沸,并保持微沸,提取一定时间,停止加热,放置1 h以上,开启测定器下端的活塞,将水缓缓放出收集挥发油,流出液经乙醚连续萃取3次,将所得挥发油乙醚溶液用无水硫酸钠干燥过夜,旋转蒸发除去乙醚,得到油状物,即为薄荷挥发油。并计算供试品中挥发油的含量(%)。具体操作流程如下:

薄荷粉碎→薄荷粉筛分→水蒸气蒸馏提取(控制药材粒度、加水倍数、提取时间、浸泡时间)→收集挥发油→乙醚萃取3次→加入无水硫酸钠→干燥过夜→旋蒸→薄荷挥发油。

按照以下公式,计算挥发油提取率。

薄荷挥发油提取率(%)=[薄荷挥发油重量(g)/原料重量(g)]×100%。

## 2 结果与讨论

### 2.1 水蒸气蒸馏提取薄荷挥发油的单因素试验

影响薄荷挥发油得率的主要影响因素为粒度、提取时间、浸泡时间、药液比。本文对药材粒度选取10目、20目、45目、60目、80目、80目以上6个水平;浸泡时间选取0、0.5、1、1.5、2、2.5 h 6个水平;提取时间选取1、2、3、4、5、6、8、10 h 8个水平;料液比选取1:6、1:8、1:10、1:12 4个水平分别进行单因素试验,得到较为适宜的提取工艺参数。

#### 2.1.1 薄荷粉碎目数对挥发油提取率的影响

每次试验取50 g薄荷粉末,在料液比1:10、室温下浸泡2 h,提取6 h条件下,按照“1.2.1”项下提取工艺,薄荷的目数分别为10目、20目、30目、45目、60目、80目、80目以上进行水蒸气蒸馏试验,结

果挥发油得率如图1所示。粒度在80目时挥发油得率最高,故以80目为粉碎粒度。

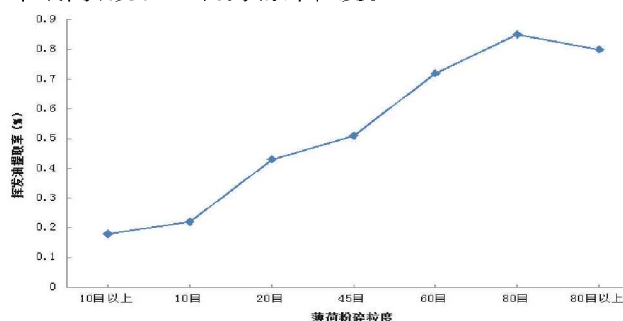


图1 薄荷粉碎粒度对挥发油提取率的影响

#### 2.1.2 薄荷浸泡时间对挥发油提取率的影响

每次试验取80目的50 g薄荷粉末,在料液比1:10,提取6 h条件下,按照“1.2.1”项下提取工艺,浸泡时间选取0、0.5、1、1.5、2、2.5 h 6个水平进行试验,结果挥发油得率如图2所示。浸泡时间在1.5 h时挥发油得率最高,故以1.5 h作为浸泡时间。

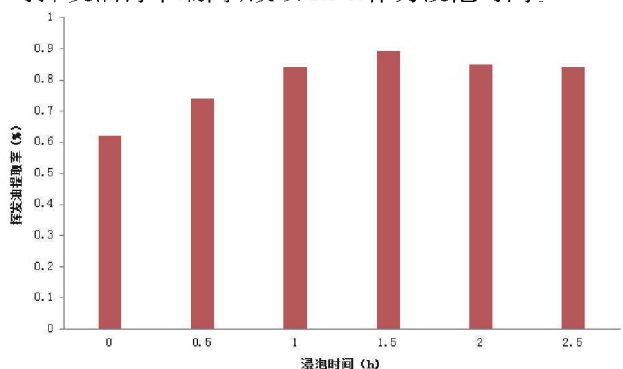


图2 浸泡时间对薄荷挥发油提取率的影响

#### 2.1.3 提取时间对薄荷挥发油提取率的影响

每次试验取80目的50 g薄荷粉末,在料液比1:10,浸泡1.5 h条件下,按照“1.2.1”项下提取工艺,提取时间选取1、2、4、6、8、10 h 6个水平进行试验,结果挥发油得率如图3所示。提取时间在6 h时挥发油得率不再明显增高,故以6 h作为浸泡时间。

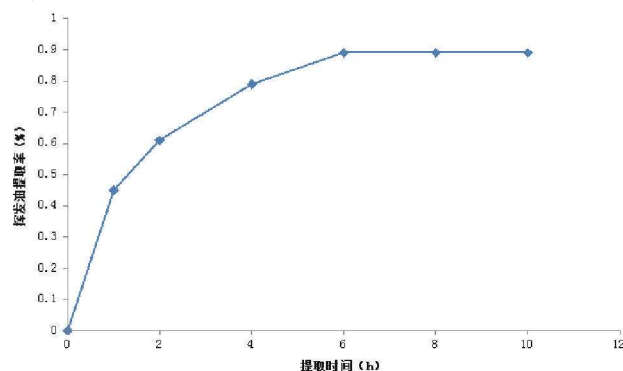


图3 提取时间对薄荷挥发油提取率的影响

#### 2.1.4 药液比对薄荷挥发油提取率的影响

每次试验取80目的50 g薄荷粉末,在浸泡时间为1.5 h,提取6 h条件下,按照“1.2.1”项下提取工艺,药液比选取1:6、1:8、1:10、1:12 4个水平进行试验,结果挥发油得率如图4所示。药液比在1:10时挥发油得率最高,故以1:10作为药液比体积。

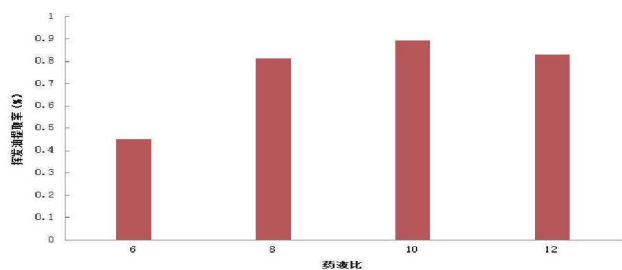


图4 药液比对薄荷挥发油提取率的影响

2.2 Box-Behnken 响应面法优化微波提取刺五加多糖工艺

在单因素试验的基础上,选取影响薄荷挥发油的提取工艺的3个因素:浸泡时间( $X_1$ )、提取时间( $X_2$ )、料液比( $X_3$ )为考察对象,以薄荷挥发油提取率( $Y$ )为评价指标,采用3因素3水平的Box-Behnken 响应面法优化薄荷挥发油提取工艺,并且按最佳提取条件进行验证3批实验试验提取工艺参数。因素水平见表1,提取工艺参数试验安排及结果见表2。

表1 实验设计水平表

自变量	水平		
	低(-1)	中(0)	高(+1)
$X_1$ (h)	1	1.5	2
$X_2$ (h)	4	6	8
$X_3$ (g/mL)	1:8	1:10	1:12

表2 Box-Behnken 实验设计表与效应值

序号	$X_1$ (h)	$X_2$ (h)	$X_3$ (g/mL)	$Y$ (%)
1	0	-1	1	0.67
2	1	-1	0	0.76
3	0	-1	-1	0.70
4	-1	-1	0	0.67
5	0	1	1	0.83
6	0	0	0	0.89
7	-1	1	0	0.84
8	-1	0	1	0.67
9	1	0	1	0.71
10	0	0	0	0.89
11	-1	0	-1	0.85
12	0	0	0	0.89
13	0	1	-1	0.73
14	0	0	0	0.89
15	1	1	0	0.87
16	0	0	0	0.89
17	1	0	-1	0.74

2.2.1 数据处理及模型拟合

采用“Design Expert 7.0”实验设计软件,对薄荷挥发油提取工艺所得数据进行处理,以评价指标(因变量)分别对各因素(自变量)进行多元线性回归和二项式方程拟合。

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2$$

其中: $\beta_i$ 代表不同的回归系数。

对二项式方程中的各项系数进行F检验,所得结果如表3所示。

2.2.2 数据拟合结果分析

经软件对数据处理后,得到多元二项回归方程:

$$Y_1 = -2.98250 + 1.12750 X_1 + 0.13375 X_2 + 0.50312 X_3 - 0.0225 X_1 X_2 - 0.005 X_1 X_3 + 0.004375 X_2 X_3 - 0.3 X_1^2 - 0.009375 X_2^2 - 0.02625 X_3^2$$

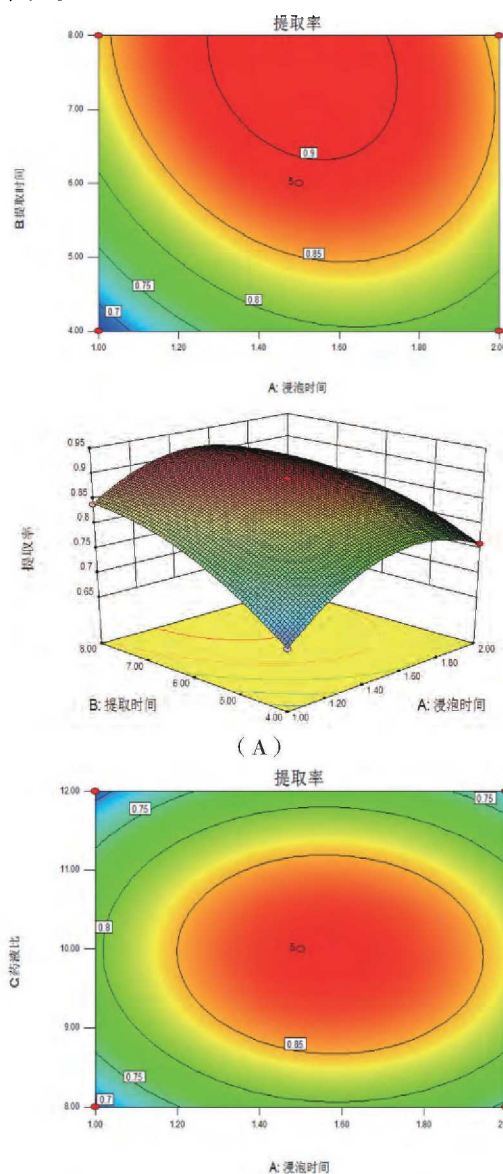
由拟合方程的相关系数( $P_r < 0.0001$ ),可知模型拟合程度良好,可以用此模型对薄荷挥发油提取工艺进行分析和预测。

表3 回归方程中系数的显著性检验

方差来源	平方和	自由度	均差	F值	$P > F$
常数项	0.121881	9	0.013542	151.674	<0.0001
$X_1$	0.003613	1	0.003613	40.46	0.0004
$X_2$	0.03125	1	0.03125	350	<0.0001
$X_3$	0.000312	1	0.000312	3.5	0.1036
$X_1 X_2$	0.002025	1	0.002025	22.68	0.0021
$X_1 X_3$	0.0001	1	0.0001	1.12	0.3251
$X_2 X_3$	0.001225	1	0.001225	13.72	0.0076
$X_1^2$	0.023684	1	0.023684	265.2632	<0.0001
$X_2^2$	0.005921	1	0.005921	66.31579	<0.0001
$X_3^2$	0.046421	1	0.046421	519.9158	<0.0001
残差	0.000625	7	0.000089		
失拟项	0.000625	3	0.21	23.37	0.0934
纯误差	0	4	0.0041		
总离差	0.122506	16			

注:表中 $P_r > F$ 值小于0.05表明模型或考察因素有显著影响; $P_r > F$ 值小于0.01表明影响高度显著。

从表3回归系数的显著性检验可知,方程模型中 $X_1$  ( $P_r = 0.0004$ )、 $X_2$  ( $P_r < 0.0001$ )、 $X_1 X_2$  ( $P_r = 0.0021$ )、 $X_2 X_3$  ( $P_r = 0.0076$ )、 $X_1^2$  ( $P_r < 0.0001$ )、 $X_2^2$  ( $P_r < 0.0001$ )、 $X_3^2$  ( $P_r < 0.0001$ )项极显著,说明浸泡时间、提取时间及这两个因素之间的交互作用对薄荷挥发油提取率影响较为显著。自变量与因变量的等高线及响应面图见图5。



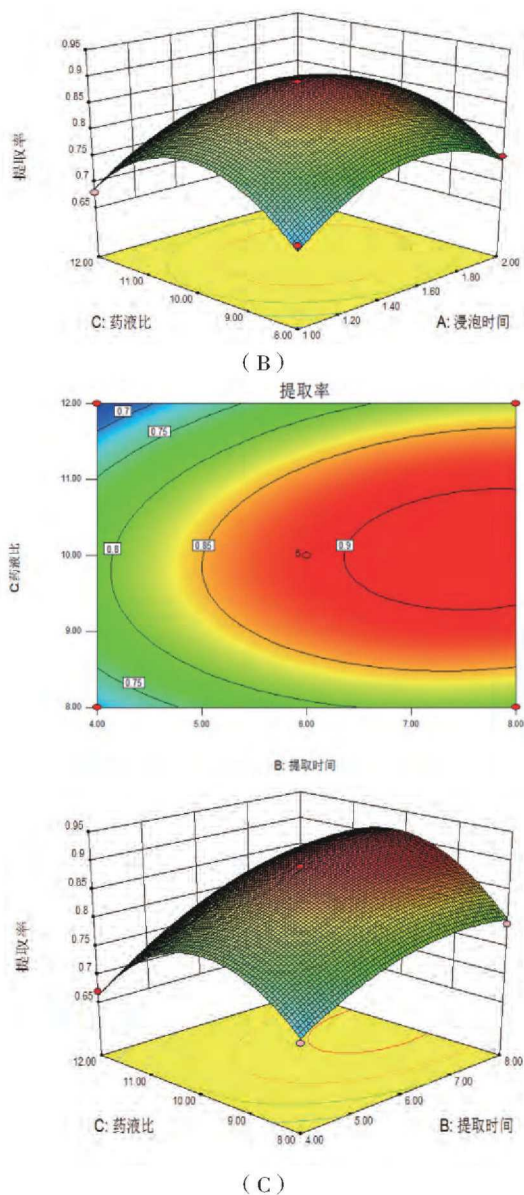


图5 响应面曲面图

2.2.3 提取工艺参数验证

以薄荷挥发油提取率最大值为目标,根据“Design Expert 8.0.6”实验设计软件得最佳薄荷挥发油提取工艺参数为:浸泡时间1.51 h,提取时间7.68 h,料液比1:10。按照“1.3.2”项下以优化后的工艺参数提取3批刺薄荷挥发油,并按照“1.3.1”项下测定薄荷挥发油量,平均提取率为(0.904%±0.12%)(n=3),实验观测值与模型预测值偏差为1.33%,可知,实验观察值和模型预测值比较接近,说明模型预测性良好。

2.3 提取过程动力学研究

2.3.1 挥发油的提取

取薄荷(过80目筛)100 g,加入10倍量水与玻璃珠数粒,振摇混合后,置烧瓶中,浸泡1.5 h,连接挥发油测定器与回流冷凝管。自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶时为止。置电热套中或用其他适宜方法缓缓加热至沸,并保持微沸,每隔一段时间记录挥发油的体积。实验平行3次,计算平均值即为药材挥发油体积。

2.3.2 挥发油提取动力学模型方程一

根据文献[8]建立的挥发油提取动力学方程: $V=V_s \times (1-e^{-kt})$ ,  $V_s$ 表示药材所含挥发油的总量,  $V$ 为已提取的挥发油量。采用origin 9.0,以BoxLucas1函数 $Y=a(1-e^{-bx})$ 进行非线性拟合,结果如图6所示,得动力学模型方程 $V=0.9003(1-e^{-0.00996t})$ ( $R^2=0.9982$ )。

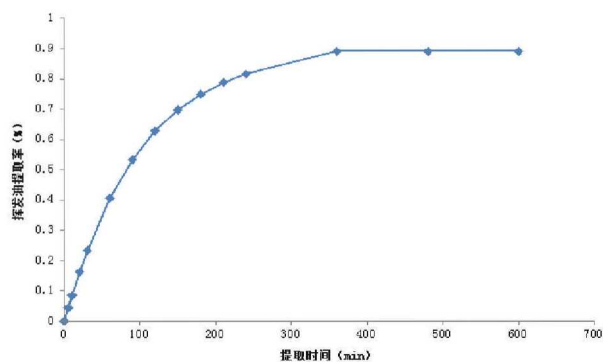


图6 薄荷挥发油提取曲线

2.3.3 挥发油提取动力学模型方程二

根据文献[9]建立的挥发油提取动力学方程:数学模型为: $\ln(V_0-V)=-kt+A$ ,  $V_0$ 为以最佳工艺蒸馏的提取量0.904%,  $V$ 表示已提取的挥发油的量,采用spss 20软件对实验数据进行拟合,结果如图7所示,得到拟合方程: $\ln(0.904-V)=-0.0097t-0.174$ ( $R^2=0.9979$ )。

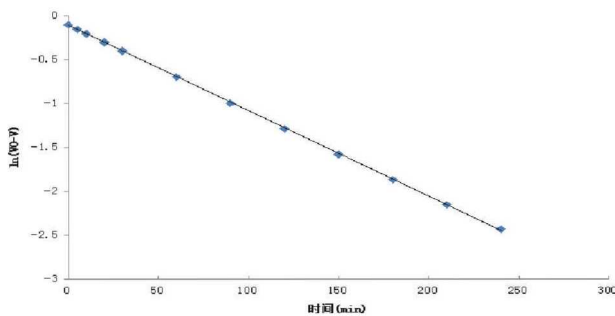


图7 挥发油提取动力学

3 结论

Box-Behnken响应面优化法可以通过中心组合实验研究,考察几种实验因素间相互作用的一种回归分析方法,具有实验次数少、精确度高等优点,并能通过二次多项式方程模拟建立模型,预测最优的提取工艺。本文首先通过单因素考察,研究了薄荷粉碎目数、浸泡时间、提取时间、料液比对薄荷挥发油提取率的影响,得到初步的提取工艺参数范围,在通过Box-Behnken响应面法优化薄荷挥发油的提取工艺,并得到最佳提取工艺参数,最佳提取工艺参数:浸泡时间1.51 h,提取时间7.68 h,料液比1:10。并通过3批实验验证最优工艺参数,实验结果表明,实测薄荷挥发油提取率与预测值基本一致,平均提取率为(0.904%±0.08%)(n=3)。对薄荷挥发油的提取动力学过程进行研究,建立了动力学模型方程: $V=0.9003(1-e^{-0.00996t})$ ( $R^2=0.9982$ )和 $\ln(0.904-V)=-0.0097t-0.174$ ( $R^2=0.9979$ )。本研究通过响应面优化法对薄荷挥发油的提取工艺进行优化,实验结果具有重复性好、提取效率高、条件参数准确可靠等优点。

## 基于黄酮类成分对射干指纹图谱研究

邸子真<sup>1</sup>,王冰<sup>1</sup>,张颖<sup>2</sup>,王光函<sup>2</sup>,邹桂欣<sup>2</sup>,李国信<sup>2</sup>

(1.辽宁中医药大学,辽宁 大连 116600;2.辽宁省中医药研究院,辽宁 沈阳 110034)

**摘要:**目的:研究不同产地射干的指纹图谱,建立共有模式图谱,为射干药材质量控制提供依据。方法:采用HPLC法测定,以乙腈-水作为流动相进行梯度洗脱,检测波长为265 nm。结果:建立了共有模式图谱,11份射干样品共有25个共有色谱峰,保留时间RSD≤0.77%,非共有峰保留时间RSD<2.0%。结论:各产地射干样品所含黄酮类成分种类相似,成分含量差异较大,应用过程中应加以区分。

**关键词:**射干;黄酮;HPLC指纹图谱

**中图分类号:**R284 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-842X(2016)05-0069-03

### Research of the Fingerprint of *Rhizoma Belamcandae* Based on the Flavonoids Ingredients

DI Zizhen<sup>1</sup>, WANG Bing<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>2</sup>, WANG Guanghan<sup>2</sup>, ZOU Guixin<sup>2</sup>, LI Guoxin<sup>2</sup>

(1.College of Pharmacy Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, Liaoning, China; 2.Liaoning Academy of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, Liaoning, China)

**Abstract:** Objective: Research on fingerprints of *Rhizoma belamcandae* of different regions, build mutual pattern mapping, to provide the basis medicinal materials quality control for *Rhizoma belamcandae*. Methods: Use HPLC method, with acetonitrile and water as mobile phase in gradient elution, detection wavelength of 265 nm. Results: Built the mutual pattern mapping of 11 samples of *Rhizoma belamcandae*, the retention time of 25 common chromatographic peaks RSD ≤ 0.77%, and the retention time of other chromatographic peaks RSD<2.0%. Conclusion: The different origins of *Rhizoma belamcandae* with similar flavonoids ingredients, but the component content is different, we should differentiate them during the application process.

**Keywords:** *Rhizoma belamcandae*; flavonoid; HPLC fingerprint spectrum

射干[*Belamcanda chinensis* (L.) Redout é]为鸢尾科射干属植物<sup>[1]</sup>,在《神农本草经》中就有对射干药用价值的记载,是应用历史十分悠久的中草药。据报道射干中含有丰富的黄酮类成分,例如射干苷、鸢尾黄素等<sup>[2-5]</sup>,这些成分具有调节脂类代谢、糖代谢,保护心肌,抗炎抗氧化,雌激素样作用等多种生

理活性<sup>[6-10]</sup>,是射干中的主要活性成分。

射干在中药材市场上属于销量中等偏下的品种,以家种为主,特点是分布广泛、集约化程度低、标准化程度低。导致了射干药材质量差异大,难以得到有效的控制。本文采用HPLC法,分析了11份射干样品指纹图谱,包括占据较大市场份额的安国产

对薄荷挥发油的提取动力学过程进行了拟合发现随着提取时间的延长,挥发油的得率不再明显增长,因此动力学方程一可以对挥发油的提取全过程进行动力学拟合,而动力学方程二只是对前5.5 h进行拟合,因此动力学方程一可以为薄荷挥发油为薄荷挥发油提取过程的工程放大提供参考。◆

#### 参考文献

- [1] 房海灵,李维林,任冰如,等.薄荷属植物的化学成分及药理学研究进展[J].中国药业,2010(10):13.
- [2] 庞晓慧,徐海滨,韩建萍,等.中药材薄荷的DNA条形码鉴定研究[J].中国中药杂志,2012(8):1114.
- [3] 刘红杰,金若敏.薄荷油研究进展[J].山东中医药大学学报,

2006(6):502.

- [4] 高梅,潘久香,贾茹.挥发油提取方法的研究进展[J].生命科学仪器,2012(5):3.
- [5] 余小翠,刘高峰.响应面分析法在中药提取和制备工艺中的应用[J].中药材,2010(10):1651.
- [6] 程轩轩,林晓仕.白豆蔻挥发油的提取工艺优化及过程动力学研究[J].中药材,2011(7):1147.
- [7] 程轩轩,黄铿.草澄茄挥发油的成分分析及提取过程动力学研究[J].广东药学院学报,2012(1):33-36.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [9] 何兵,田吉.挥发油提取过程动力学模型及其参数的确定[J].泸州医学院学报,2003(6):478-481.
- [10] 韩泳平,向永臣,王曙宾,等.挥发油提取过程动力学数学模型研究[J].中成药,2001(1):13-15.

收稿日期:2015-10-11

基金项目:国家重大新药临床技术平台资助项目(2012zx09303017);国家自然科学基金资助项目(81273927);国家临床重点专科建设项目(2013年);国家中医药管理局临床中药学重点学科项目(2009年);辽宁中医药大学杏林学者青蓝工程;李国信科研团队项目;辽宁省自然科学基金项目(2015020387)

作者简介:邸子真(1984-),女,辽宁沈阳人,助理研究员,硕士研究生,研究方向:中药资源与品质评价。

通讯作者:李国信(1963-),男,辽宁沈阳人,教授、主任医师,研究方向:中药临床药理学。E-mail: syyjldgx024@126.com。



微信公众号:lnzyydxxb(或扫左侧二维码关注)

投稿平台: <http://lzx.cbpt.cnki.net>