

Box-Behnken 设计-响应面法优化蒲公英根产地初加工工艺

王建强¹, 姜爽^{1#}, 唐 珊^{1*}, 李 伟^{1,2*}

1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

2. 吉林农业大学生命科学学院, 吉林 长春 130118

摘要: 目的 通过多种评价指标, 利用综合加权评分法以及 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 全面优化蒲公英 *Taraxacum mongolicum* 产地加工关键技术。方法 蒲公英根的产地加工主要与切制前不同含水量、不同干燥方式及烘干温度、不同切制厚度 3 个因素密切相关。比较了蒲公英根在 10 种不同干燥方法、5 种不同切制厚度下各类化学成分的变化。结果 优选了蒲公英根产地初加工工艺最优参数为含水量 70%, 烘干温度 50 °C, 切制厚度 (13±2) mm。结论 优化出的蒲公英根产地最佳工艺切实可行, 工艺简便, 可操作性强, 进一步丰富蒲公英根质量评价标准, 为蒲公英根产地初加工提供参考依据。

关键词: 蒲公英根; 芦丁; 单咖啡酰酒石酸; 绿原酸; 咖啡酸; 菊苣酸; 齐墩果酸; Box-Behnken 设计响应面法; 产地加工
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)19-6295-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.19.011

Optimization of primary processing of *Taraxacum mongolicum* roots in origin by Box-Behnken design response surface method

WANG Jian-qiang¹, JIANG Shuang¹, TANG Shan¹, LI Wei^{1,2}

1. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Abstract: Objective To optimize the key technologies of Pugongying (*Taraxacum mongolicum*) origin processing comprehensively through multiple evaluation indicators using a comprehensive weighted scoring method as well as the Box-Behnken design-response surface method (BBD-RSM). **Methods** The origin processing of *T. mongolicum* roots was closely related to three factors: different moisture contents before cutting, different drying methods and drying temperatures, and different cutting thicknesses. The changes in the chemical composition of *T. mongolicum* roots were compared for 10 different drying methods and five different cutting thicknesses. **Results** The optimal parameters for origin primary processing of *T. mongolicum* roots were optimized as 70% moisture content, 50 °C drying temperature, and (13 ± 2) mm cutting thickness. **Conclusion** The optimized origin process of *T. mongolicum* roots is practical, simple and operable, which provide basis for the further origin process of *T. mongolicum* roots.

Key words: *Taraxacum mongolicum* roots; rutin; caffeoyl tartaric acid; chlorogenic acid; caffeic acid; chicory acid; oleanolic acid; Box-Behnken design response surface method; origin processing

中药材产地加工是指在基原植物的最佳采收年限、采收期内对其进行采收, 在采收地进行加工炮制的过程^[1]。产地加工是控制中药材质量的关键所在。适宜的产地初加工方法, 可以最大限度地保留

药材中的有效物质、从而提升药材的品质^[2]。例如黄精的九蒸九晒加工方法^[3], 杜仲的发汗加工^[4]。

蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz. 是我国药食两用的药材的典型代表, 是集观赏性、药

收稿日期: 2023-04-25

基金项目: 吉林省科技发展计划(20210204041YY); 吉林省科技发展计划(20200708067YY); 吉林省教育厅科学技术研究项目(JJKH20210375KJ)

作者简介: 王建强(1995—), 男, 博士研究生, 主要从事中药药效物质基础与作用机制研究。Tel: 15754368458 E-mail: jianqiang8458@126.com

*通信作者: 唐 珊(1987—), 女, 实验师, 主要中药资源开发与利用研究。Tel: 18604314263 E-mail: Tangshan0423@163.com

李 伟(1980—), 男, 教授, 医学博士, 博士生导师, 主要从事药用植物资源开发与利用研究。

Tel: 13504467727 E-mail: liwei7727@126.com

#共同第一作者: 姜 爽(1988—), 女, 硕士生导师, 主要从事中药药效物质基础与作用机制研究。

Tel: 13204309591 E-mail: jiangshuang0503@hotmail.com

用和营养价值于一体的药用植物,蒲公英中含有的黄酮类、酚酸类、三萜类、倍半萜类以及多糖等成分^[5],为蒲公英发挥药效的功能性成分,也是具有清热解毒、利湿通淋和止痛散结之功效的重要物质基础^[6-8]。近年来随着蒲公英丰富的药用及营养价值被逐渐发现,蒲公英加工技术的关键日益突显,从而对其产地加工关键技术提出更高的要求。目前,吉林省蒲公英传统加工炮制包括除去杂质,洗净,切段,干燥等常规方法,采收后采用自然晒干,自然环境与晾晒条件等因素对蒲公英根品质影响较大。所得到的蒲公英质量参差不齐,存在加工过程耗时长、易霉变、部分有效成分含量降低等问题^[9-10]。尽管《中国药典》2020 年版将醇浸出物和菊苣酸作为蒲公英质量评价指标^[11],但仍缺乏对蒲公英的其他有效成分综合考察,也不能在中医药理论指导下全面考察蒲公英的传统功效。并且目前国内外已有很多与蒲公英全草化学成分相关的研究,但是对其根部研究相对较少,并且市面销售的蒲公英产品多为蒲公英根茶,因此,本研究选取的研究材料为蒲公英根部,以便为蒲公英根部的开发和利用提供理论基础。本研究采用单因素实验与响应面法优化相结合的方法,根据蒲公英根产地加工不同加工参数,利用现代分析技术,建立蒲公英根的多指标定量分析方法;综合分析蒲公英根加工过程中化学成分变化,通过综合加权评分法,全面优化蒲公英根产地初加工关键技术,为蒲公英根产地加工炮制一体化提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器与设备

TYSP-500A 型多功能粉碎机,邯郸市旭彬医疗器械贸易有限公司;AR64CN 型奥豪斯电子天平、XO25-12DT 型超声波清洗机,上海奥豪斯国际有限公司;SHZ-A 型水浴恒温振荡器,上海博迅医疗生物仪器股份有限公司;DHG-9203A 型鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;T6 型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;Waters e2695 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;色谱柱 Cosmosil 5 C₁₈-AR-II (250 mm×4.6 mm, 5 μm),日本 Nacalai Tesque 公司。

1.2 药材与试剂

实验用药材为 1 年生蒲公英新鲜根,经吉林农业大学胡全德教授鉴定为菊科蒲公英属植物蒲公英 *T. mongolicum* Hand. -Mazz. 的新鲜根。

对照品芦丁(批号 PS010207)、葡萄糖(批号 PS020418)、单咖啡酰酒石酸(批号 PS011707)、绿原酸(批号 PS010694)、咖啡酸(批号 PS010522)、菊苣酸(批号 PS011697)、齐墩果酸(批号 PS000728),质量分数≥98.0%,购于成都普思生物科技有限公司;分析纯甲醇、乙醇及其他试剂,购于吉林省科汇经贸有限公司;娃哈哈纯净水购于杭州娃哈哈集团有限公司;色谱级甲醇、乙腈(德国 Simark 公司),购于浙江衢采物联科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 蒲公英根产地初加工工艺

蒲公英传统加工炮制是除去杂质,洗净,切段,干燥等常规方法,采收后采用自然晾干的方法。本研究通过单因素实验,探究不同含水量,不同干燥方式、烘干温度和不同切制厚度等因素对蒲公英根主要化学成分的影响,并利用 Box-Behnken 设计,结合响应面法优化蒲公英根产地初加工工艺。

2.2 单因素考察切制前不同含水量对蒲公英根加工的影响

2.2.1 不同含水量蒲公英根的制备 取同一批大小均匀(根长 15~17 cm,直径 15~16 mm)的鲜蒲公英根,均分为 5 组(每组重复 3 批),于 60 °C 烘箱烘干,采用《中国药典》2020 年版中的“水分测定法”中的烘干法分别烘干至含水量为 70%、60%、50%、40%、30%,取出后考察切制情况。

2.2.2 不同含水量对蒲公英根切制的影响 随着含水量的降低,蒲公英根表面性状由饱满、颜色均匀逐渐变得略有皱皮至皱皮明显;气味逐渐减淡;断面由光滑平坦逐渐变得略有毛茬至不光滑;含水量为 60%~70%时,质地清脆容易切制,含水量 50%~60%时,质地略柔软,可切制,而含水量降至 40%时,不易切制。因此,选择 70%、60%和 50%作为切制前较适合的含水量进行后续考察。

2.3 单因素考察不同干燥方式、烘干温度及不同切制厚度对蒲公英根质量的影响

2.3.1 蒲公英根的制备

(1) 不同干燥方式及烘干温度蒲公英根的制备:取同一批大小均匀(根长 15~17 cm,直径 15~16 mm)的鲜蒲公英根,直刀切制成厚度为 10 mm 的片,分别采用晒干,阴干,50、60、70、80、90、100 °C 烘干,60 °C 远红外干燥和-80 °C 冻干共 10 种干燥方式,使切片干燥至水分不超过 10.0%,外观形状如图 1 所示。

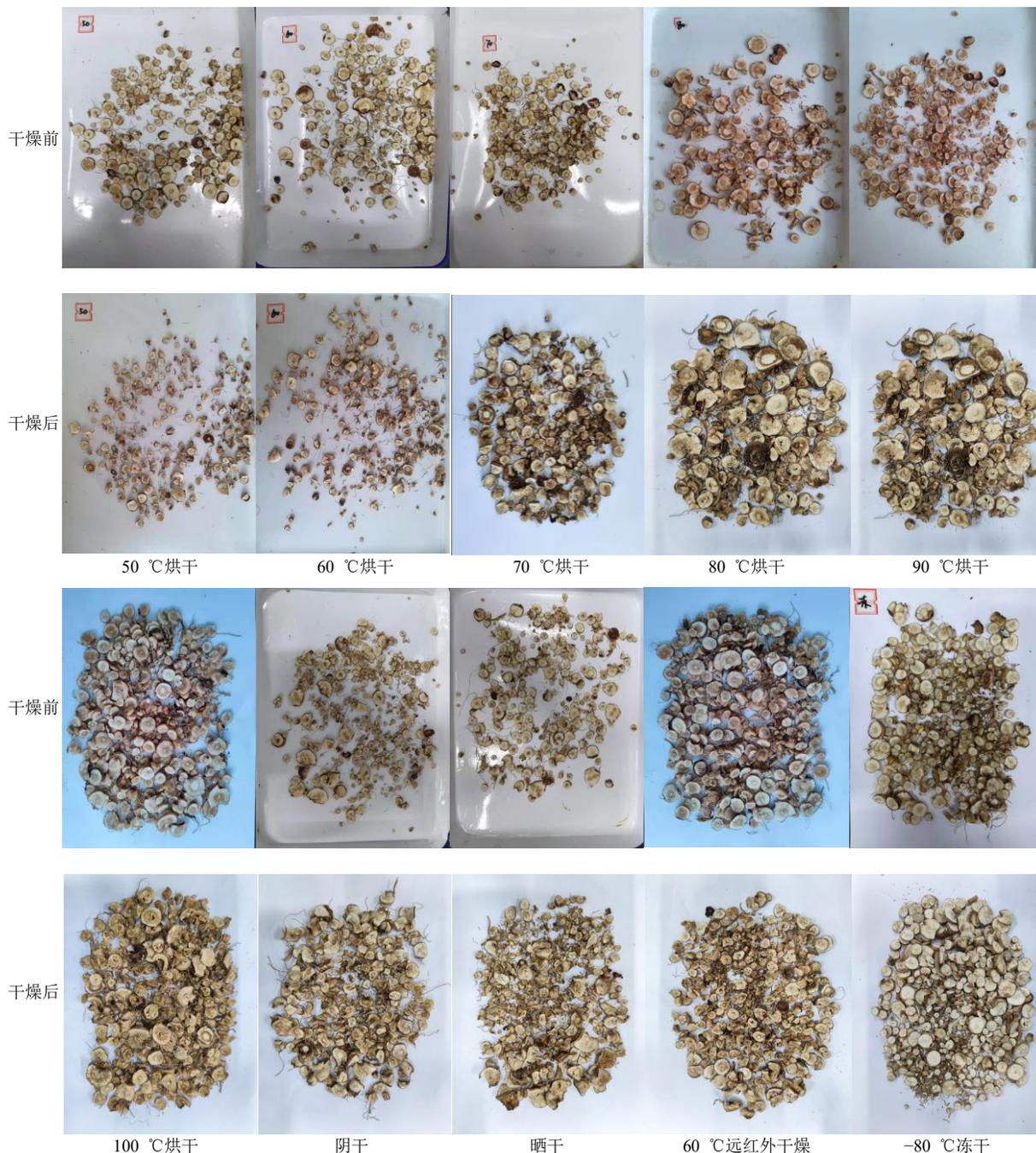


图 1 不同干燥方式及烘干温度的蒲公英根外观性状

Fig. 1 Appearance traits of *T. mongolicum* roots with different drying methods and drying temperatures

(2) 不同切制厚度蒲公英根的制备:《中国药典》2020年版^[11]中蒲公英饮片项下规定的炮制方法为“除去杂质,洗净,切段,干燥”。对段的长度规定为短段是5~10 mm,长短是10~15 mm。因此,选择取同一批大小均匀(根长15~17 cm,直径15~16 mm)的鲜蒲公英根,洗净泥沙,分成5等份进行切制,切制厚度分别为(0, 5]、(5, 10]、(10, 15]、(15, 20]、(20, 25] mm后,将处理好的5等份蒲公英根置于精密鼓风干燥箱中,温度调至60℃烘干

至水分不超过10.0%,其外观形状如图2所示。

2.3.2 蒲公英根中总黄酮含量测定

(1) 对照品溶液的制备:精密称取120℃干燥恒定质量的芦丁对照品约10.00 mg,用60%乙醇溶解,定容至10 mL量瓶中,即得含芦丁1.0 mg/mL的对照品溶液。

(2) 供试品溶液的制备:总黄酮样品提取方法参见冉靛等^[12]对蒲公英总黄酮提取工艺的优化。取不同干燥方式、烘干温度和不同切制厚度的蒲公英

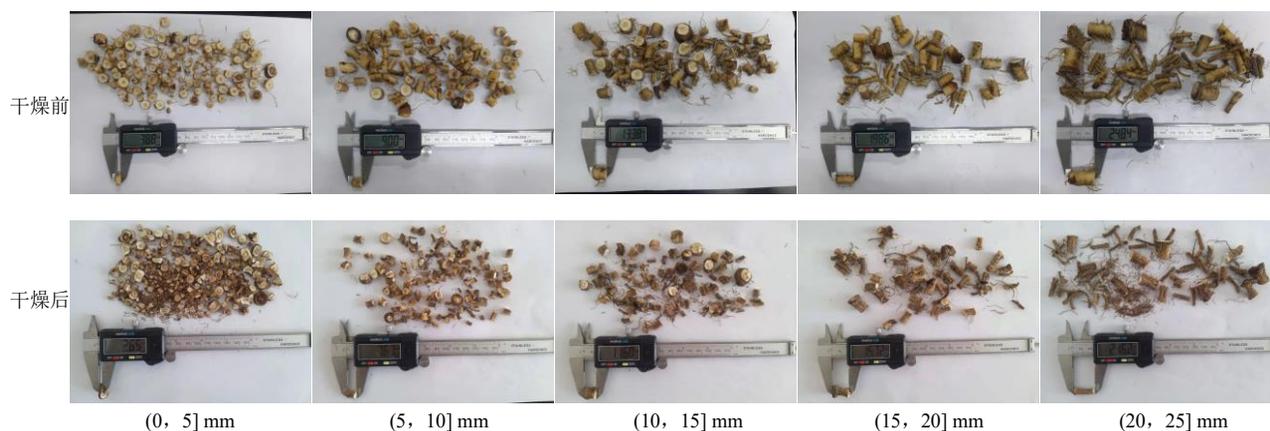


图2 不同切制厚度的蒲公英根外观性状

Fig. 2 Appearance traits of *T. mongolicum* roots with different cutting thickness

根样品粉末(过40目筛)2 g,置于锥形瓶中,加入60%乙醇200 mL,60℃震荡提取2 h,于25℃下10 000 r/min离心10 min,收集上清,即为供试品溶液,待测。

(3)样品测定:采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色体系^[13],精密量取对照品溶液0、2、4、6、8、10 mL,分别置于25 mL锥形瓶中,用60%乙醇补足至10 mL,各精密加入5%亚硝酸钠1 mL,10%硝酸铝1 mL,4%氢氧化钠15 mL,配制不同质量浓度梯度的芦丁对照品溶液,在510 nm处测定其吸光度(A)值。通过采用芦丁标准曲线法^[14],以芦丁质量浓度为横坐标(X), A 值为纵坐标(Y),绘制标准曲线,经过线性回归得到回归方程: $Y=2.510 X+0.000 7$, $R^2=0.999 6$,线性范围为0.8~12.4 mg/mL。利用标准曲线计算芦丁的含量。

从表1可见,不同干燥方式及烘干温度条件下黄酮质量分数在7.012~9.510 mg/g。其中50℃烘干时,黄酮质量分数最低(7.012 mg/g),而60℃烘干时,黄酮质量分数达到最高(9.510 mg/g)。90、100℃烘干及远红外干燥方式,黄酮质量分数都略高于其他方式。不同切制厚度的蒲公英根中黄酮质量分数在5.364~6.481 mg/g,并无较大差异。其中15~20 mm时,黄酮质量分数达到最高(6.481 mg/g),其次为(20, 25] mm和(10, 15] mm,黄酮质量分数分别为6.025、5.950 mg/g,(0, 5] mm时,黄酮质量分数最低(5.364 mg/g)。

2.3.3 蒲公英根中多糖含量测定

(1)对照品溶液的制备:精密称取经105℃干燥至恒定质量的无水葡萄糖对照品约10.00 mg,用蒸馏水溶解,定容至10 mL量瓶中,即得含葡萄糖

1.0 mg/mL的对照品溶液。

(2)供试品溶液的制备:取不同干燥方式、烘干温度和不同切制厚度的蒲公英根样品粉末(过40目筛)2 g,置于烧杯中,加入10倍量的蒸馏水,70℃提取1 h,收集上清,将沉淀再次提取,共提取2次,合并滤液,减压浓缩,采用Sevage法去除样品中的蛋白质,然后提取液中加入无水乙醇进行沉淀,4℃冷藏过夜,弃上清,沉淀加入蒸馏水完全溶解,即得供试品溶液。

(3)样品测定:通过苯酚-硫酸法^[15-16],精密量取对照品溶液0、0.25、0.5、1、2、4 mL,分别置于25 mL具塞刻度试管中,用蒸馏水补足至10 mL,再加入6%苯酚溶液1 mL和浓硫酸5 mL,冷却后用酶标仪在490 nm波长处检测 A 值,以葡萄糖质量浓度为横坐标(X), A 值为纵坐标(Y),绘制标准曲线,经过线性回归得到回归方程: $Y=7.981 X-0.003 7$, $R^2=0.997 3$,线性范围为1.2~14.6 mg/mL。利用标准曲线计算葡萄糖的含量。

由表1可知,不同干燥方式及烘干温度多糖质量分数在51.602~86.460 mg/g,其中冷冻干燥的多糖质量分数远高于其他干燥方式,其次是阴干处理。随着烘干温度的逐渐升高,多糖质量分数逐渐降低,100℃烘干时多糖质量分数最低,为51.602 mg/g;不同切制厚度总多糖质量分数在71.341~88.616 mg/g,(20, 25] mm的多糖质量分数高于其他切制厚度,且随着切制厚度减小,总多糖质量分数逐渐降低,在(0, 5] mm时达到最低值71.341 mg/g。

2.3.4 蒲公英根中4种酚酸含量测定

(1)供试品溶液的制备:精密称取“2.3.1”项下不同干燥方式、烘干温度和不同切制厚度的蒲公

表1 不同干燥方式、烘干温度及不同切制厚度的蒲公英根中总黄酮、总多糖、总皂苷和4种酚酸的含量变化 (n=3)
Table 1 Changes in total flavonoids, total polysaccharides, total saponins and four kinds of phenolic acid contents of *T. mongolicum* root slices under different drying methods, temperatures and different cut thicknesses (n=3)

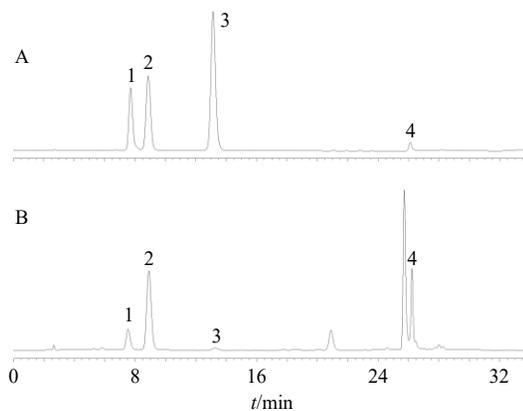
初加工方式	质量分数/(mg·g ⁻¹)			质量分数/%		4种酚酸/%				
	总黄酮	总多糖	总皂苷	水浸出物	醇浸出物	单咖啡酰酒石酸	绿原酸	咖啡酸	菊苣酸	总量
干燥方式及 晒干	7.504	64.775	29.999	61.960	58.822	0.041	0.140	0.009	0.182	0.372
烘干温度 阴干	7.725	71.116	24.961	63.852	58.683	0.040	0.151	0.009	0.160	0.360
50℃烘干	7.012	63.946	25.597	65.475	57.383	0.052	0.100	0.002	0.180	0.334
60℃烘干	9.510	66.214	24.230	63.461	55.926	0.050	0.140	0.003	0.212	0.405
70℃烘干	8.096	78.831	22.311	63.585	54.781	0.030	0.091	0.004	0.130	0.255
80℃烘干	8.164	52.439	22.937	62.392	55.184	0.042	0.110	0.006	0.170	0.328
90℃烘干	8.593	53.629	25.160	59.613	56.513	0.050	0.100	0.007	0.181	0.338
100℃烘干	8.501	51.602	25.186	62.670	59.955	0.050	0.092	0.015	0.170	0.327
远红外	7.368	73.735	16.512	67.693	61.239	0.043	0.150	0.005	0.161	0.359
冻干	7.844	86.460	29.015	70.506	61.015	0.040	0.140	0.016	0.180	0.376
切制厚度 (0, 5] mm	5.364	71.341	36.341	70.513	57.347	0.052	0.120	0.009	0.201	0.382
(5, 10] mm	5.830	77.271	33.682	66.206	58.225	0.050	0.091	0.006	0.204	0.351
(10, 15] mm	5.950	79.871	34.941	66.224	56.391	0.042	0.110	0.008	0.210	0.370
(15, 20] mm	6.481	79.850	34.756	64.317	54.151	0.040	0.120	0.012	0.210	0.382
(20, 25] mm	6.025	88.616	33.860	64.852	54.525	0.031	0.090	0.014	0.183	0.318

英根干燥样品粗粉 2 g, 精密加入 70%甲醇 50 mL, 摇匀, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W、频率 40 kHz) 1 h, 取出放冷至室温, 再称定质量, 用 70%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过 0.22 μm 滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

(2) 混合对照品溶液的制备: 分别精密称取单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、菊苣酸对照品适量, 加入色谱纯甲醇配制成质量浓度分别为 40.2、40.4、20.0、41.4 μg/mL 的混合对照品溶液, 过 0.22 μm 滤膜, 取续滤液, 即得混合对照品溶液。

(3) 色谱条件: 色谱柱为 Cosmosil 5 C₁₈-AR-II (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.2%磷酸水溶液-甲醇; 梯度洗脱: 0~15 min, 25%甲醇; 15~25 min, 25%~50%甲醇; 25~28 min, 50%甲醇; 28~29 min, 50%~25%甲醇; 29~34 min, 25%甲醇; 柱温 35℃; 体积流量 1.0 mL/min; 进样体积 20 μL; 紫外检测器, 检测波长 330 nm。

(4) 线性关系考察: 分别精密吸取“2.3.4 (2)”中混合对照品溶液 6、8、10、12、14、16 μL 注入高效液相色谱仪 (HPLC), 按照“2.3.4 (3)”项下色谱条件进行 HPLC 分析, 记录色谱图, 结果如图 3 所示。分别以单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、菊苣酸进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y)



1-单咖啡酰酒石酸 2-绿原酸 3-咖啡酸 4-菊苣酸
1-caffeoyl tartaric acid 2-chlorogenic acid 3-caffeic acid 4-chicory acid

图3 4种酚酸混合对照品(A)和蒲公英根样品(B)的HPLC图

Fig. 3 HPLC of four kinds of phenolic acid mixed reference substances (A) and *T. mongolicum* root test sample (B)

绘制标准曲线, 计算回归方程, 结果分别为单咖啡酰酒石酸 $Y=76\ 242 X-59\ 414$, $R^2=0.998\ 5$, 线性范围为 20.0~42.0 μg/mL; 绿原酸 $Y=122\ 137 X-36\ 567$, $R^2=0.999\ 5$, 线性范围 15.0~40.0 μg/mL; 咖啡酸 $Y=108\ 157 X-22\ 786$, $R^2=0.999\ 2$, 线性范围 10.0~30.2 μg/mL; 菊苣酸 $Y=127\ 445 X-27\ 948$, $R^2=0.999\ 2$, 线性范围 20.0~44.8 μg/mL。

(5) 精密度试验: 然后精密吸取“2.3.4 (2)”中的混合对照品溶液 10 μL , 重复进样 6 次, 计算出各个色谱峰的相对保留时间的 $\text{RSD}<1.7\%$, 各个色谱峰的相对峰面积的 $\text{RSD}<2.3\%$, 表明仪器精密度良好。

(6) 稳定性试验: 在不同时间段 (0、2、4、8、12、24 h) 称取对照品溶液和晒干组供试品溶液, 用于稳定性试验, 计算出各个色谱峰相对保留时间的 $\text{RSD}<1.28\%$, 各个色谱峰相对峰面积的 $\text{RSD}<2.74\%$, 表明对照品和供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

(7) 重复性试验: 取 6 份同一批晒干组蒲公英根粉末 2.0 g, 制备供试品溶液, 计算出各个色谱峰相对保留时间的 $\text{RSD}<0.67\%$, 各个色谱峰的相对峰面积的 $\text{RSD}<2.88\%$, 结果表明该方法的重复性良好。

(8) 加样回收率试验: 精密吸取供试品溶液 1.0 mL, 各加入 1.0 mL 不同质量浓度对照品溶液, 根据 HPLC 分析进行加样回收率计算。结果单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、菊苣酸的平均加样回收率分别为 97.87%、101.90%、97.28%、97.39%, RSD 分别为 0.38%、0.50%、0.87%、0.79%, 表明方法学考察适用于蒲公英根酚酸类成分的 HPLC 分析。

(9) 样品测定: 采用外标法计算蒲公英根中 4 种酚酸的含量 (色谱图见图 3), 重复 3 次测定, 取其平均值。采用 HPLC 法测定不同干燥方式、烘干温度及不同切制厚度的蒲公英根中单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸及菊苣酸的含量, 结果如表 1 所示, 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘干时酚酸质量分数最高, 达到 0.40%; 而晒干、阴干、远红外及冻干方式均达到 0.36%。切制(15, 20] mm 时, 酚酸质量分数最高达到 0.39%, 而(0, 5] mm 时为 0.38%, (20, 25] mm 时最低, 达到 0.32%。

2.3.5 蒲公英根中总皂苷含量测定

(1) 对照品溶液的制备: 精密称取约 10.00 mg 齐墩果酸对照品, 用 70% 甲醇溶解, 定容至 10 mL 量瓶中, 即得含齐墩果酸 1.0 mg/mL 的对照品溶液。

(2) 供试品溶液的制备: 精密称取“2.2.1”项下处理的不同干燥方式、烘干温度及不同切制厚度的蒲公英根干燥样品粗粉 5 g, 加入 70% 甲醇 100 mL 进行超声提取 1 h, 经离心后, 取上清, 即得供试品溶液, 待测。

(3) 样品测定: 利用香草醛-高氯酸显色体系测

定方法^[17], 精密量取对照品溶液 0.5、1、2、3、4 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 70 $^{\circ}\text{C}$ 挥发至干, 加入香草醛溶液 (0.5 g 溶于 10 mL 冰醋酸) 0.2 mL 和高氯酸 0.8 mL, 55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 20 min, 吸取 0.5 mL 反应液, 再加入冰醋酸 2.5 mL 充分混合, 在 589 nm 波长处检测 A 值, 以 A 值为纵坐标 (Y), 齐墩果酸质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 经过线性回归得到方程: $Y=0.0036X-0.012$, $R^2=0.9968$, 线性范围为 0.2~15.2 mg/mL。利用标准曲线计算总皂苷的含量。

结果如表 1 所示, 测定了不同干燥方式及烘干温度的蒲公英根中皂苷含量。检测发现, 不同干燥方式及烘干温度下总皂苷质量分数差异较大, 在 16.512~29.999 mg/g, 晒干和冻干处理的皂苷质量分数高于其他干燥方式, 分别为 29.999、29.015 mg/g, 其次是 90、100 $^{\circ}\text{C}$ 烘干, 质量分数最低的为远红外干燥处理。不同切制厚度的蒲公英根中总皂苷质量分数并无明显差异, 在 33.680~36.341 mg/g, (0~5] mm 厚度皂苷质量分数略高于其他厚度, 为 36.341 mg/g, 质量分数最低的为厚度(10~15] mm。

2.3.6 蒲公英根中水浸出物含量测定 按《中国药典》2020 年版^[1]水溶性浸出物项下热浸法进行测定, 采用热浸法对不同干燥方式、烘干温度及不同切制厚度的蒲公英根进行测定。结果如表 1 所示, 发现不同干燥方式及烘干温度水浸出物质量分数无明显差异, 质量分数在 59.613%~70.506%, 冻干和远红外干燥样品中质量分数最高, 分别为 70.506%、67.693%。不同切制厚度的水浸出物质量分数无明显差异, 质量分数在 64.317%~70.513%, (0~5] mm 厚度时质量分数最高, 随着切制厚度逐渐增大, 水浸出物质量分数逐渐降低。

2.3.7 蒲公英根中醇浸出物含量测定 按《中国药典》2020 年版醇溶性浸出物项下热浸法进行测定: 采用热浸法对不同干燥方式、烘干温度及不同切制厚度的蒲公英根进行测定。结果如表 1 所示, 发现不同干燥方式及烘干温度样品中醇浸出物质量分数无明显差异, 质量分数在 54.781%~61.239%, 远红外和冻干样品中质量分数最高, 分别为 61.239%、61.015%。不同切制厚度样品的醇浸出物质量分数无明显差异, 质量分数在 54.151%~58.225%。

2.4 蒲公英根的综合质量评价

2.4.1 蒲公英根外观评价标准的建立 《中国药典》2020 年版^[1]中规定蒲公英药材饮片为不规则的段,

其根表面棕褐色，气微，味微苦。在炮制时先除去杂质，洗净，切段，干燥。故从表面性状（满分 2.0 分）、质地（满分 1.0 分）、断面特征（满分 2.0 分）等 3 个方面对蒲公英根性状进行归纳并评分。评分标准见表 2。

表 2 蒲公英根外观评价标准

Table 2 Appearance evaluation standard of *T. mongolicum* root decoction pieces

性状考察指标		评分
表面性状	表面皱皮明显，表面颜色深（棕褐色）	2.0
	表面皱皮明显，表面颜色略深（褐色）	1.6
	表面略皱皮，表面颜色均匀（深黄色）	1.2
	表面略皱皮，表面颜色浅（浅黄色）	0.8
质地	紧实	1.0
	略紧实	0.8
	疏松	0.6
断面特征	菊花心清晰，有颗粒性	2.0
	环纹模糊，较平坦	1.6
	无明显菊花心，光滑	1.2

2.4.2 综合加权评分（OD）标准 OD 标准：以外观性状、总黄酮、总多糖、酚酸、水浸出物和醇浸出物为指标进行考察，其中外观性状和有效成分质量分数的权重系数分别为 0.25 和 0.75；总黄酮的加权系数为 0.15，总多糖的加权系数为 0.15，酚酸的加权系数为 0.15，水浸出物的加权系数为 0.15，醇浸出物的加权系数为 0.15。

综合加权评分 = 25 × (外观评价实际得分/外观评价最高分) + 15 × (总黄酮实际量/总黄酮最高量) + 15 × (总多糖实际量/总多糖最高量) + 15 × (酚酸实际量/酚酸最高量) + 15 × (水溶性浸出物实际量/水溶性浸出物最高量) + 15 × (醇溶性浸出物实际量/醇溶性浸出物最高量)，OD 值越高，表明蒲公英根质量越好。

2.4.3 OD 优化不同干燥方式、烘干温度及不同切制厚度 根据 OD 标准公式分别计算不同干燥方式及烘干温度各处理组中的 OD 值，结果见表 3。根据 OD 值对不同的烘干温度进行比较可知，50、60、70 °C 烘干样品的 OD 值高于 80、90、100 °C 烘干，因此选择 50、60、70 °C 烘干作为蒲公英根的干燥方式。根据 OD 标准公式分别计算不同切制厚度各处理组中的 OD 值，结果见表 4。由结果可知，切制 10~15 mm 时 OD 值最高为 94.95，表明蒲公英

表 3 不同干燥方式及烘干温度处理蒲公英根的 OD 值

Table 3 Comprehensive score of *T. mongolicum* root treated by different drying methods and drying temperatures

干燥方式及干燥温度	OD 值	干燥方式及干燥温度	OD 值
晒干	88.48	80 °C 烘干	82.01
阴干	90.06	90 °C 烘干	82.14
50 °C 烘干	85.43	100 °C 烘干	78.42
60 °C 烘干	92.77	远红外	81.35
70 °C 烘干	84.78	冻干	96.29

表 4 不同切制厚度处理蒲公英根综合评分

Table 4 Comprehensive score of *T. mongolicum* root treated with different cutting thickness

切制厚度/mm	OD 值	切制厚度/mm	OD 值
(0, 5]	89.86	(15, 20]	94.17
(5, 10]	92.09	(20, 25]	90.93
(10, 15]	94.95		

根质量最佳，这与《中国药典》2020 年版^[11]中对段的长度规定相符合；其次为切制(15, 20] mm，OD 值为 94.17；再次是(5, 10] mm，OD 值为 92.09。因此，选择(5, 10] mm、(10, 15] mm、(15, 20] mm 3 个厚度作为较优切制厚度，分别切制 (8±2)、(13±2)、(18±2) mm 厚度的蒲公英根。

2.5 BBD-RSM 实验与结果优化蒲公英产地初加工工艺

2.5.1 实验设计方法 根据上述单因素试验结果，以切制前含水量 (X_1)、烘干温度 (X_2)、切制厚度 (X_3) 为自变量，以外观性状、黄酮、多糖、酚酸、水浸出物和醇浸出物含量 OD 值为因变量 (Y)，应用 Design-Expert 8.0.6 软件设计 3 因素 3 水平的 BBD 试验优化加工工艺。因素与水平见表 5。

2.5.2 RSM 优化蒲公英产地初加工工艺 根据单因素实验结果，以切制前含水量 (X_1)、烘干温度 (X_2)、切制厚度 (X_3) 为自变量，以 OD 值为响应值，进行 3 次平行实验验证，3 因素 3 水平的 BBD 试验方案及结果如表 5 所示。

2.5.3 模型拟合与方差分析 利用 Design-Expert 8.0.6 软件对上述试验结果进行拟合，并对其进行方差分析，结果如表 6 所示，模型 $P < 0.01$ 具有显著差异，而方差的失拟项 $P > 0.05$ 不显著，说明可用此模型来分析预测蒲公英产地初加工的工艺条件。根据方差分析结果可知，含水量 (X_1)、烘干温度 (X_2)、切制厚度 (X_3) 各因素之间存在一定的交

表5 BBD-RSM 试验设计方案及结果 (n = 3)
Table 5 Design scheme and results of BBD-RSM (n = 3)

序号	X ₁ /%	X ₂ /°C	X ₃ /mm	OD 值	序号	X ₁ /%	X ₂ /°C	X ₃ /mm	OD 值	序号	X ₁ /%	X ₂ /°C	X ₃ /mm	OD 值
1	60 (0)	60 (0)	13 (0)	0.820 0	7	50	50	13	0.820 1	13	60	60	13	0.861 4
2	70	50 (-1)	13	0.875 2	8	50	70	13	0.820 6	14	50	70	13	0.770 0
3	50 (-1)	60	8 (-1)	0.822 6	9	60	70	18	0.753 2	15	60	50	13	0.858 8
4	60	50	18 (+1)	0.780 0	10	60	70	13	0.818 3	16	50	60	18	0.713 7
5	60	70 (+1)	8	0.770 0	11	70	60	8	0.815 2	17	70	60	18	0.809 2
6	60	50	8	0.835 1	12	70	60	13	0.835 4					

表6 方差分析

Table 6 Analysis of variance

误差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性	误差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.025 721	9	0.002 858	10.07	0.003 0	极显著	X ₁ ²	0.000 144	1	0.000 144	0.51	0.498 7	
X ₁	0.004 691	1	0.004 691	16.54	0.004 8	极显著	X ₂ ²	0.000 553	1	0.000 553	1.95	0.205 4	
X ₂	0.004 830	1	0.004 830	17.03	0.004 4	极显著	X ₃ ²	0.007 693	1	0.007 693	27.12	0.001 2	极显著
X ₃	0.004 364	1	0.004 364	15.38	0.005 7	极显著	残差	0.001 986	7	0.000 284			
X ₁ X ₂	5.1×10 ⁻⁶	1	5.1×10 ⁻⁶	0.02	0.897 1		失拟项	0.000 292	3	9.73×10 ⁻⁵	0.23	0.871 5	不显著
X ₁ X ₃	0.002 644	1	0.002 644	9.32	0.018 5	显著	纯误差	0.001 694	4	0.000 423			
X ₂ X ₃	0.000 368	1	0.000 368	1.30	0.292 2		总和	0.027 707	16				

交互作用, X₁、X₂、X₃ 对 OD 值均有显著影响, X₁X₃ 和 X₃² 对工艺有显著影响, 而 X₁X₂ 与 X₂X₃ 并无明显影响。各因素对蒲公英根产地初加工工艺的影响程度大小排序为依次为 X₂>X₁>X₃, 即烘干温度>含水量>切制厚度。

2.5.4 响应面分析蒲公英产地初加工最佳工艺 为进一步评价 3 个因素之间的交互作用对蒲公英根产地初加工工艺的影响并确定最佳工艺, 本实验绘制了响应曲面图和等高线图, 并进行分析, 结果见图

4。随着含水量的增加和烘干温度的降低, OD 值逐渐增大, 响应面有倾斜度; 随着含水量的增加, OD 值的变化不明显, 而随着切制厚度的增加, OD 值呈现降低的趋势; OD 值随着烘干温度和切制厚度的降低均分别呈现升高的趋势, 响应面相对平缓, 等高线呈圆环状。

结合方差分析结果可知, 含水量与切制厚度 2 个因素之间的交互作用显著 (P<0.05)。进一步得到蒲公英根产地初加工工艺最优工艺参数为含水量

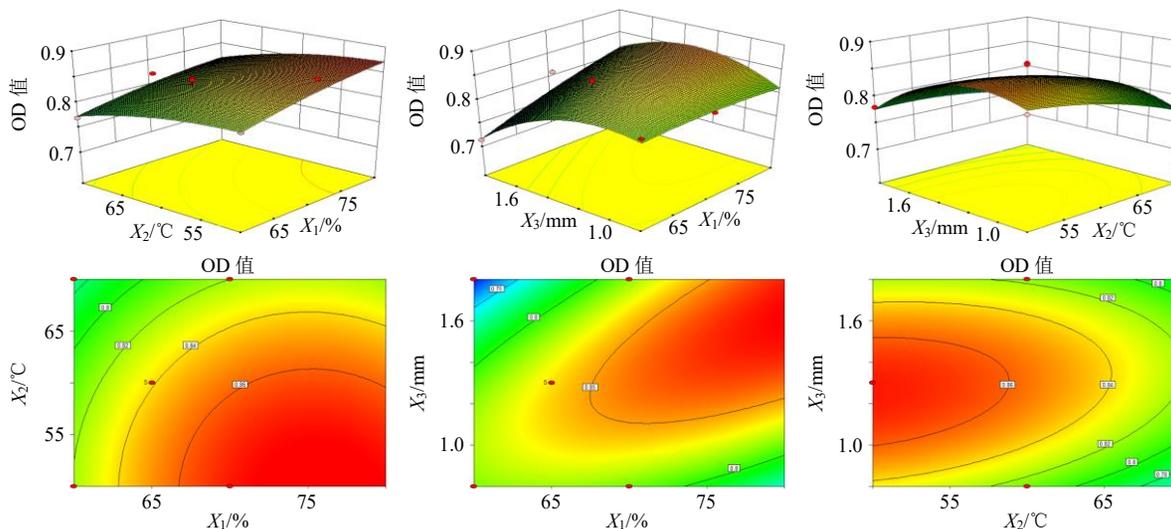


图4 各因素之间交互影响的响应面曲面图

Fig. 4 Response surface plot of interaction between factors

70%，烘干温度 50 °C，切制厚度 (13±2) mm。

3 讨论

中药复杂多样的有效成分是防病治病基础，因此，采用多个指标综合评价炮制工艺更具科学性、合理性。分别赋以指标性成分不同权重，综合评判不同加工工艺，避免了以某单一成分或某一类成分为指标优选工艺时所产生的片面效果，更加全面有效的优选最佳加工工艺，为开发和利用精品特色加工炮制品奠定基础。

鲜药材经采收后其内部仍不断进行着一系列的生理生化代谢活动，为避免药材继续进行呼吸消耗，降低营养物质含量，应尽快进行产地初级加工，如切制、干燥处理等^[18-19]。本研究首先优化了蒲公英根切制前不同含水量，随着含水量的降低药材表面性状由饱满、颜色均匀逐渐变得略有皱皮至皱皮明显；气味逐渐减淡；断面由光滑平坦逐渐变得略有毛茬至不光滑；根据蒲公英根外观性状和切制难易程度，选择 70%、60%和 50%作为切制前较适合含水量。蒲公英根传统的加工方式为采收后直接晾晒或在通风处阴干。在阴干和晒干时，蒲公英根的多糖、酚酸、皂苷等有效成分含量均较高，且实际操作简单，运行成本较低，但晒干易受自然环境与晾晒条件等外界不稳定因素影响，并且所得到的蒲公英根质量参差不齐；阴干加工过程耗时长，且需严格控制空气湿度，存在易霉变、部分有效成分含量降低等问题^[20]。

随着科技的不断发展，现代的干燥方法已经逐步发展起来，如真空冷冻干燥、远红外干燥、微波干燥等^[21-22]。真空冷冻干燥在低温、低氧的环境下进行，且水分以固体状态直接升华，使蒲公英根能够最大程度保持其原有结构和形状，使多糖、皂苷等有效成分含量最高^[23]。远红外烘箱干燥的速率较快，但同时升温过程耗能较多，功率不易控制，在实验过程中部分蒲公英根出现了焦糊现象。相比较之下，鼓风干燥是通过热风流动使水分加热并挥发，具有成本较低、操作简便、干燥时间短和温度稳定等优点，可用于蒲公英根产地初加工。

本研究考察了蒲公英根的 10 种不同干燥方法，其中 60 °C切片干燥所加工生产的蒲公英根，外观片型较为优异，其中表面皱皮明显，表面颜色深（棕褐色），质地紧实，菊花心清晰，有颗粒性，完全符合蒲公英根外观性状最佳标准。此方式加工条件下，有效成分含量总体占不同加工方式前列，相比其他

加工方式也极大地节约了成本及加工时间。

《中国药典》2020 年版^[1]中蒲公英饮片项下规定的炮制方法为除去杂质，洗净，切段，干燥。对段的厚度规定为薄段是(5, 10] mm，厚段是(10, 15] mm。本研究考察了蒲公英根中不同切制厚度对有效成分含量的影响，其中水浸出物和醇浸出物含量变化趋势为随着切制厚度增加，含量逐渐降低，(0, 5] mm 的蒲公英根浸出物含量最高。而多糖成分随着切制厚度增加，含量逐渐增高，(20, 25] mm 的蒲公英根，多糖含量最高。黄酮和酚酸类成分，在(15, 20] mm 的蒲公英根中含量最高，切制过厚或过薄，都会影响其有效成分含量。在优选出产地加工方式的基础上，以干燥温度、切片厚度作为蒲公英的考察因素，并结合蒲公英主要药效成分黄酮、多糖、酚酸、以及水浸出物、醇浸出物的含量，作为蒲公英根加工的单因素考察指标，优选出 50 °C为最佳烘干温度，10~15 mm 厚度为最佳加工厚度。并通过利用多指标综合加权评分法和响应面法确定蒲公英根在含水量 70%，烘干温度 50 °C，切制厚度 (13±2) mm，可达到最佳加工工艺。

4 结论

本研究通过多种评价指标，利用综合加权评分法以及 BBD-RSM 全面优化蒲公英产地加工关键技术，进一步丰富完善了蒲公英根质量评价标准，使蒲公英根的加工与炮制过程更加规范，完善了蒲公英根“一体化”的规范体系建设。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 郭新苗, 陈昊廷. 中药材最佳采收期和初加工、贮藏方法 [J]. 农村新技术, 2017(5): 52-54.
- [2] 张佳旭, 黄成凤, 朱兴龙, 等. 基于 CRITIC 结合 Box-Behnken 响应面法的厚朴产地趁鲜加工与炮制一体化工艺研究 [J]. 中草药, 2023, 54(17): 5560-5567.
- [3] 秦宇雯, 张丽萍, 赵祺, 等. 九蒸九晒黄精炮制工艺的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(21): 5631-5637.
- [4] 魏学军, 林先燕, 李雪莹, 等. 基于杜仲多糖生物活性的适宜“发汗”加工方法研究 [J]. 黔南民族医药学报, 2019, 32(1): 8-10.
- [5] 姜雪冰, 王知斌, 孙延平, 等. 东北蒲公英根的化学成分研究 [J]. 中成药, 2023, 45(6): 1887-1891.
- [6] 聂文佳, 徐帅师, 张咏梅. 蒲公英有效成分及其药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(7): 140-145.
- [7] Hu C. Taraxacum: Phytochemistry and health benefits [J].

- Chin Herb Med*, 2018, 10(4): 353-361.
- [8] 孟然, 薛志忠, 鲁雪林, 等. 蒲公英的功效成分与药理作用研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2021, 49(9): 36-43.
- [9] 辛二旦, 张爱霞, 牛江涛, 等. 根及根茎类药材的干燥方法探究进展 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(8): 1965-1967.
- [10] 李卓俊, 吴翠, 徐博, 等. 蒲公英采收、初加工、贮藏、包装环节的调查 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(3): 498-501.
- [11] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 367.
- [12] 冉靓, 刘廷婷. 蒲公英黄酮提取工艺的优化 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(26): 15917-15919.
- [13] 吕亭亭, 杨志华, 谢奇, 等. 泡桐花总黄酮含量测定方法研究 [J]. 化学与生物工程, 2020, 37(10): 64-68.
- [14] 延永, 张亦琳, 吴永玲, 等. 响应面法优化蒲公英总黄酮提取工艺及其抑菌活性 [J]. 广西林业科学, 2019, 48(2): 223-228.
- [15] Masuko T, Minami A, Iwasaki N, *et al.* Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format [J]. *Anal Biochem*, 2005, 339(1): 69-72.
- [16] 陈鸿, 林玥, 邵平, 等. 不同采收期、不同年限东北铁线莲中总多糖及齐墩果酸含量测定 [J]. 人参研究, 2023, 35(3): 13-15.
- [17] 唐昭领, 莫建光, 黄艳. 响应面优化香草醛-冰醋酸-高氯酸法测定金花茶叶中总皂甙含量 [J]. 广东农业科学, 2014, 41(13): 99-103.
- [18] 李秀萍. 中药材的质量与采收和产地加工的研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(6): 22-23.
- [19] 吴潍. 产地初加工方法对中药材质量的影响 [J]. 中医药管理杂志, 2020, 28(1): 90-94.
- [20] 高凯娜, 顾立群, 沈威, 等. 不同加工方法对中草药有效成分的影响研究 [J]. 现代园艺, 2019(1): 29-31.
- [21] 赵润怀, 段金廛, 高振江, 等. 中药材产地加工过程传统与现代干燥技术方法的分析评价 [J]. 中国现代中药, 2013, 15(12): 1026-1035.
- [22] 桑迎迎, 周国燕, 王爱民, 等. 中药材干燥技术研究进展 [J]. 中成药, 2010, 32(12): 2140-2144.
- [23] Ren D F, Mao Z H, Wang J Z. Application and quality control of vacuum freeze drying in processing Chinese herb [J]. *Trans CSAE*, 2002, 18(5): 198-201.

[责任编辑 郑礼胜]