

Box-Behnken 响应面法优化铁皮石斛的真空冷冻干燥工艺

臧琛, 聂其霞, 王国华, 罗赣, 张保献, 李翠*

(中国中医科学院 中药研究所 雾化吸入制剂研究中心, 北京 100700)

[摘要] 目的:采用响应面法优化铁皮石斛的真空冷冻干燥工艺,为其冷冻干燥工业化生产提供理论依据。方法:在单因素试验基础上,采用 Box-Behnken 响应面法,以总多糖质量分数为指标,考察升华干燥温度、升华干燥时间、真空度 3 个因素对铁皮石斛真空冷冻干燥工艺的影响,优化铁皮石斛的冻干工艺条件。采用 HPLC 建立铁皮石斛氨基酸类成分的指纹图谱, ODS-Hypersil 色谱柱(0.46 cm × 20 cm, 5 μm),检测波长 338 nm(0~37.5 min)和 262 nm(37.5 min 之后),柱温 35 ℃。通过比较工艺优化后干燥样品与鲜品铁皮石斛指纹图谱的相似度,验证真空冷冻干燥工艺的可行性。结果:铁皮石斛最佳冷冻干燥工艺条件为升华干燥温度 -16.4 ℃,升华干燥时间 11.04 h,真空度 85 Pa。在此条件下,干燥的铁皮石斛样品总多糖平均质量分数 23.74%,与预测值基本一致,铁皮石斛干燥品与鲜品指纹图谱的相似度 > 0.90。结论:通过 Box-Behnken 响应面法建立的模型预测性较好,适用于铁皮石斛真空冷冻干燥工艺条件的优化。

[关键词] 铁皮石斛; 真空冷冻干燥; 响应面法; 指纹图谱; 总多糖; 总黄酮; 氨基酸

[中图分类号] R22; R282.4; R283.6; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)10-0015-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180904

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180214.1838.028.html>

[网络出版时间] 2018-02-22 22:42

Optimization of Vacuum Freeze-drying Technology for *Dendrobii Officinalis Caulis* by Box-Behnken Response Surface Methodology

ZANG Chen, NIE Qi-xia, WANG Guo-hua, LUO Gan, ZHANG Bao-xian, LI Cui*

(Research Center of Atomization Inhalation Preparation, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** In order to provide a theoretical basis for mass production, the vacuum freeze-drying technology of *Dendrobii Officinalis Caulis* was optimized by Box-Behnken response surface methodology. **Method:** Based on single factor experiment, Box-Behnken response surface method was used to optimize vacuum freeze-drying technology of *Dendrobii Officinalis Caulis* with the content of total polysaccharides as index. The fingerprint of amino acids in *Dendrobii Officinalis Caulis* was established by HPLC. HPLC was conducted on ODS-Hypersil column (0.46 cm × 20 cm, 5 μm) with gradient elution; the detection wavelength was set at 338 nm before 37.5 min, then changed to 262 nm. The similarity of fingerprints between samples dried by the optimized technology and fresh samples was calculated. **Result:** The best freeze-drying process conditions of *Dendrobii Officinalis Caulis* were as follows: the sublimation drying temperature of -16.4 ℃, the sublimation drying time of 11.04 h, vacuum degree of 85 Pa. Under these conditions, the content of total polysaccharides in *Dendrobii Officinalis Caulis* was 23.74%, its tested value and predicted value were basic identical. Compared with the fresh samples, the similarity of fingerprint of dried products was more than 0.90. **Conclusion:** Model established by

[收稿日期] 20170919(026)

[基金项目] 全国中药特色技术传承人才培养项目(L2016002)

[第一作者] 臧琛,副主任技师,从事中药制剂工艺研究, Tel:010-64087445, E-mail: czang@icmm.ac.cn

[通信作者] *李翠,博士,从事中药新药的研究与开发, Tel:010-64087445, E-mail: licui-1982@163.com

Box-Behnken response surface methodology has good predictability, which is suitable for optimizing the vacuum freeze-drying technology of *Dendrobii Officinalis Caulis*.

[Key words] *Dendrobii Officinalis Caulis*; vacuum freeze-drying technology; response surface methodology; fingerprint; total polysaccharides; total flavonoids; amino acids

铁皮石斛主要分布于贵州、广西、浙江、福建、云南、湖南等地,具有益胃生津、滋阴清热的功效^[1-3]。在诸多经典古籍医书中多有记载,如秦汉时期的《神农本草经》将铁皮石斛列为上品,“主伤中、除痹、下气、补五脏虚劳羸瘦、强阴、久服厚肠胃”;明代李时珍在《本草纲目》中记载铁皮石斛“强阴益精,厚肠胃,补内绝不足,平胃气,长肌肉,益智除惊,轻身延年”;《景岳全书》载其“除脾胃之火,去嘈杂善饥,及营中蕴热。退火养阴除烦,清肺下气,亦止消渴热汗”,皆属清虚热、虚火之患。

大量现代研究表明,铁皮石斛含有丰富的多糖、生物碱、氨基酸、微量元素等成分,具有很好的降血糖、调血脂、抗氧化、抗衰老、改善肝功能、提高免疫力、抗肿瘤等功效^[4-8]。由于新鲜的铁皮石斛不能长久保存,通常加工成干品,以防止霉烂、虫蛀和变质,易于保存。传统的铁皮石斛加工一般采用加热烘干的办法,色、香、味均发生变化,难免会造成营养成分和活性成分的损失,进而对铁皮石斛的品质产生影响^[9-10]。真空冷冻干燥是低温干燥技术,在高真空度、低温条件下进行干燥,能抑制微生物的生长和酶的作用,从而最大限度地保持产品品质^[11-12]。据文献报道^[13-14],已经应用真空冷冻干燥技术对铁皮石斛干燥进行了研究,但均采用的是单因素试验考察,并未进一步优化工艺参数。本实验拟通过 Box-Behnken 响应面法对铁皮石斛真空冷冻干燥工艺条件进行优化,以期能够得到简单、经济、科学的干燥条件,为铁皮石斛的干燥工艺研究及其质量评价提供参考。

1 材料

Epsilon 2-4 型冷冻干燥机(德国 Marin Christ 公司,主要技术参数为工作电压 230 V,频率 50 Hz,制冷功率 2×0.6 kW,冷阱温度 -85 °C,捕冰能力 4 kg,24 h 凝冰量 3 kg,隔板温度 $-70 \sim 60$ °C,可进行预冻及加热;带共晶点探头,可进行样品共晶点测定;带温度探头,可进行样品温度实时监测;可实时监测冻干全过程中电阻率的变化;真空泵抽气速率 $5.7 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$,极限真空 0.04 Pa),1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),XP105 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),DK-98-11 型电热恒温水浴

锅(天津市泰斯特仪器有限公司),T6 型新世纪紫外-可见分光光度计(北京市普析通用仪器有限责任公司),RT-C100S 型切片机(台湾荣聪精密科技有限公司),Multiskan GO 型全波长酶标仪(美国赛默飞世尔科技有限公司)。

铁皮石斛购于浙江省绍兴市新昌县东方小草中药材专业合作社,经山东中医药大学李佳教授鉴定为兰科植物铁皮石斛 *Dendrobium officinale* 的新鲜茎,将铁皮石斛鲜品去除叶片和杂质后,用切片机切成 1 mm 薄片,每份 150 g,均匀平铺于 $15 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$ 敞口铝箔纸盒内,存放在冰箱中(-20 °C),真空冷冻干燥备用;*D*-无水葡萄糖对照品(江苏永健医药科技有限公司,批号 101183,纯度 99%),谷氨酸、丝氨酸、丙氨酸、缬氨酸、芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 140690-201203,14688-201102,140680-201303,140681-201202,100080-200306,纯度为 100%,100%,99.9%,99.6%,91.7%),天冬氨酸、脯氨酸对照品(成都普思生物科技股份有限公司,批号分别为 PS170629-03,PS170629-04,纯度均 $\geq 98\%$),水为屈臣氏去离子水,三乙胺、乙腈、甲醇和四氢呋喃均为色谱级,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总多糖的含量测定^[1]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称定 *D*-无水葡萄糖对照品适量,加水使溶解,置于 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,得 $87 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液。

2.1.2 标准曲线的建立 精密量取 2.1.1 项下对照品溶液 0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL,分别置于 10 mL 具塞试管中,加水补至 1.0 mL,精密加入临时配制的 5% 苯酚溶液 1 mL,摇匀,精密加入硫酸 5 mL,摇匀,置沸水浴中加热 20 min,取出,置冰浴中冷却 5 min,以相应试剂为空白,按紫外-可见分光光度法(2015 年版《中国药典》(四部)通则 0401)于 488 nm 处测定吸光度 *A*,以 *A* 为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 0.0067X + 0.1365$ ($R^2 = 0.9993$),线性范围 $0 \sim 12.43 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品打粉,精密称取粉末(过三号筛,下同)约 0.1 g,加水 10 mL,加热回

流2 h,放冷后转移至50 mL量瓶中,用少量水分次洗涤容器,洗液并入同一量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液1 mL,置15 mL离心管中,精密加入无水乙醇10 mL,摇匀,4℃冷藏2 h,取出,离心15 min($6\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$),弃去上清液,沉淀加80%乙醇洗涤2次,每次8 mL,离心5 min(转速 $6\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$),弃去上清液,沉淀加热水使溶解,转移至25 mL量瓶中,放冷,加水定容至刻度,摇匀,即得。

2.1.4 样品测定 精密量取供试品溶液1 mL,置于10 mL具塞试管中,照**2.1.2**项下方法自“精密加入临时配制的5%苯酚溶液1 mL”开始操作,计算供试品溶液中铁皮石斛总多糖的含量。

2.2 总黄酮的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称定芦丁对照品适量,置于10 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,得 $29\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对照品溶液。

2.2.2 标准曲线的建立 精密吸取不同体积的芦丁对照品溶液,加甲醇稀释不同倍数,得7个不同质量浓度的对照品溶液。分别吸取甲醇和7个不同质量浓度的对照品溶液40 μL ,加入96孔板中,加入5%亚硝酸钠溶液3.2 μL ,混匀,放置10 min;加入10%硝酸铝溶液3.2 μL ,混匀,放置10 min;加入4%氢氧化钠溶液40 μL ,混匀,放置10 min;加入甲醇13.6 μL 补足至100 μL ,静置10 min。将96孔板放入酶标仪中,在510 nm处测定A,以质量浓度为横坐标,A为纵坐标,得回归方程 $Y = 158.82X - 4.798$ ($R^2 = 0.9927$),线性范围0~29 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末约0.2 g,精密称定,置于圆底烧瓶中,加10%氨水1 mL,混匀;加入80%甲醇9 mL,85℃水浴加热回流3 h,放冷,加80%甲醇补足缺失的质量,滤纸过滤,滤液水浴蒸干,用甲醇复溶并定容至2 mL,即得。

2.2.4 样品测定 精密量取供试品溶液适量,照**2.2.2**项下方法测定A,计算供试品溶液中铁皮石斛总黄酮的含量。

2.3 指纹图谱的相似度分析^[15]

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、脯氨酸、丙氨酸、缬氨酸对照品适量,置同一10 mL量瓶中,加 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶解并稀释至刻度,摇匀,作为储备液(每1 mL含天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、脯氨酸、丙氨酸、缬氨酸均为1 mg)。精密吸取该储备液2 mL,置10 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取本品约0.5 g,精密称定,加80%乙醇20 mL,加热水浴回流1 h,放冷,转移至25 mL量瓶中,加50%乙醇稀释至刻度,摇匀,滤过,滤液用0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.3.3 色谱条件^[11] 采用ODS-Hypersil色谱柱(0.46 cm \times 20 cm,5 μm),流动相A(取乙酸钠7.00 g,加水4 L使溶解,加三乙胺0.8 mL和四氢呋喃24 mL,混匀,用2%冰乙酸溶液调节pH 7.2)和流动相B(取乙酸钠10.88 g,加水800 mL使溶解,加乙腈1.4 L和甲醇1.8 L,混匀,用2%冰乙酸溶液调节pH 7.2)梯度洗脱(0~20 min,100%~85% A;20~45 min,85%~36% A;45~45.01 min,36%~0% A;45.01~55 min,0% A),检测波长338 nm(0~37.5 min)和262 nm(37.5 min之后),柱温35℃。

2.3.4 精密度试验 取**2.3.2**项下供试品溶液,按上述色谱条件连续进样6次。将6次测定结果图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),结果6个共有峰(天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、丙氨酸、缬氨酸、脯氨酸)峰面积的RSD 0.2%~3.3%,保留时间的RSD 0.4%~0.9%,表明仪器精密度良好。

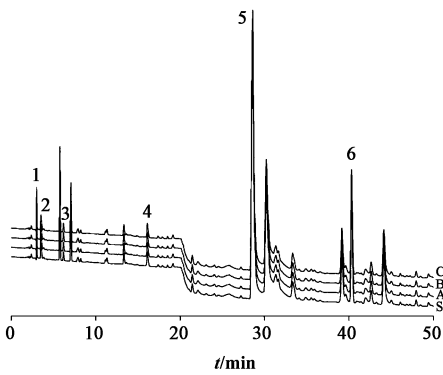
2.3.5 稳定性试验 取**2.3.2**项下制备的供试品溶液1份,在上述色谱条件下分别在0,2,4,8,12,24,48 h进样测定。将测定结果图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),结果6个共有峰(天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、丙氨酸、缬氨酸、脯氨酸)峰面积的RSD 0.9%~2.9%,保留时间的RSD 0.4%~0.9%,表明供试品溶液在48 h内保持稳定。

2.3.6 重复性试验 按**2.3.2**项下方法平行制备供试品溶液6份,按上述色谱条件测定,将测定结果图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),结果6个共有峰(天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、丙氨酸、缬氨酸、脯氨酸)峰面积的RSD 0.8%~3.8%,保留时间的RSD 0.6%~1.0%,表明该方法的重复性良好。

2.3.7 共有图谱的建立 取**2.3.2**项下制备的供试品溶液和**2.3.1**项下混合对照品溶液,按**2.3.3**项下色谱条件测定,见图1。

2.4 单因素试验考察

2.4.1 共晶点的测定 将敞口铝箔纸盒内铁皮石斛样品置于冷冻干燥机箱内,插入共晶点探头及温度探头,启动共晶点测定仪,设定冷冻干燥机预冻温度-70℃,预冻2 h,测定共晶点。共晶点是混合溶



S. 鲜品; A, B, C. 验证试验样品; 1. 天冬氨酸; 2. 谷氨酸; 3. 丝氨酸; 4. 丙氨酸; 5. 缬氨酸; 6. 脯氨酸

图 1 铁皮石斛中氨基酸组分的指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of amino acids in *Dendrobii Officinalis Caulis*

液的各个成分均达到冰点并开始形成固定晶格结构的温度。为保证物料完全冻结,产品预冻温度一般选择低于共晶点温度 5 ~ 15 °C 为宜,经测定,得铁皮石斛共晶点 -19 °C,推测预冷冻温度应 < -30 °C,为确保产品在预冻时完全冻结,选择 -30 °C 为预冻温度。

2.4.2 真空度 干燥箱真空度的高低与升华、解析过程中传热、传质速率关系密切,真空度降低有助于传质,但削弱传热,干燥时间变长,故需要优选干燥箱真空度。将铁皮石斛切片迅速放入干燥室内,温度 -30 °C 条件下预冻 2 h,设定真空度分别为 1, 10, 63, 100, 165 Pa,加热隔板温度为 40 °C,干燥 6 h,测定总多糖含量。当干燥室真空度达 63 Pa 时,总多糖含量发生了明显的提升,并且趋于稳定,达到 1 个传热和传质的相对平衡。故选择真空度设定 26, 63, 100 Pa 作为响应面试验的 3 个水平。

2.4.3 升华阶段干燥温度 升华干燥阶段是指冻结样品的冰晶升华成水蒸气挥出而使样品干燥脱水,此时全部冰晶去除,样品中全部水分的 90% 左右除去。在实验过程中,升华时所需热量由搁板供给,在 -30 °C 温度下预冻 2 h,真空度维持在 63 Pa, 40 °C 进行解析干燥 6 h 的条件下,选择升华干燥温度 -1, -5, -10, -20, -30 °C 共 5 个水平进行单因素试验。结果发现升华阶段温度越高,产品的性状良好,质地疏松,颜色均匀;温度越低,需要延长升华干燥时间,相对耗能增加,通过比较,选择升华干燥温度 -1, -10, -19 °C 作为响应面试验的 3 个水平。

2.4.4 升华阶段干燥时间 在升华干燥阶段,升华时间是很关键的因素。因此在确定 -30 °C 下预冻

2 h, 40 °C 进行解析干燥 6 h, 升华温度 -20 °C 条件下,考察升华干燥时间 2, 4, 8, 10, 12 h。结果发现如果升华阶段时间太短,搁板温度很快达到预定的温度,促使供给物料的热量过快增加,导致超过物料的共融点温度使其融化;如果时间过长会延长冻干周期,增加能耗。故选择升华干燥时间 4, 8, 12 h 作为响应面试验的 3 个水平。

2.5 响应面试验优选 在预试验和单因素试验基础上,选取升华干燥温度、真空度和升华干燥时间为考察因素,以铁皮石斛总多糖含量为评价指标,称取铁皮石斛鲜品,每份 150 g,采用 Box-Behnken 响应面法对工艺进行优化,考察各因素对冷冻干燥工艺的影响,试验安排及结果见表 1。

表 1 铁皮石斛冷冻干燥工艺优选的响应面试验分析

Table 1 Analysis of vacuum freeze-drying technology for *Dendrobii Officinalis Caulis* by response surface methodology

No.	A 升华干燥温度 / °C	B 真空度 / Pa	C 升华干燥时间 / h	总多糖质量分数 / %	总黄酮质量分数 / %
1	-19	100	8	20.93	31.01
2	-10	26	12	22.36	29.23
3	-10	100	4	19.93	30.17
4	-10	63	8	23.18	28.65
5	-10	100	12	23.58	29.89
6	-1	63	12	22.70	30.77
7	-1	26	8	22.87	29.98
8	-19	26	8	20.32	30.09
9	-10	26	4	18.16	30.25
10	-1	100	8	23.46	30.12
11	-10	63	8	23.06	30.32
12	-19	63	4	18.14	29.80
13	-1	63	4	21.41	30.09
14	-19	63	12	22.51	29.67
15	-10	63	8	21.82	30.02

2.5.1 回归模型的建立及方差分析^[16] 以总多糖含量作为评价指标,采用 Design-Expert 8.0.6 软件分别对各因素水平进行响应分析,得二次回归模型方程 $Y = 22.69 + 1.07A + 0.52B + 1.69C - 5.00 \times 10^{-3}AB - 0.77AC - 0.14BC - 0.30A^2 - 0.49B^2 - 1.19C^2$ ($r = 0.9453$)。失拟项用来表示所用模型与实验拟合的程度,即两者的差异程度,本试验中失拟项的 $P > 0.05$,说明对模型是有利的,无失拟因素存在,见表 2。结果表明方程拟合度和可信度均较好,

可用此模型对铁皮石斛真空冷冻干燥工艺进行分析和预测。采用 Design-Expert 8.0.6 软件绘制响应面图,见图 2。结果自变量一次项 A, C 极显著 ($P < 0.01$),二次项 C^2 显著 ($P < 0.05$),交互项都不具有显著性差异。表明升华干燥温度和升华干燥时间对干燥工艺有极显著性影响,3 个考察因素之间不存在交互作用。

表 2 回归模型的方差分析

Table 2 Variance analysis of regression model

方差来源	SS	f	MS	F	P
模型	42.53	9	4.73	9.60	0.011 4
A	9.12	1	9.12	18.51	0.007 7
B	2.19	1	2.19	4.46	0.088 5
C	22.82	1	22.82	46.34	0.001 0
AB	1.00×10^{-4}	1	1.00×10^{-4}	2.03×10^{-4}	0.989 2
AC	2.37	1	2.37	4.82	0.079 6
BC	0.08	1	0.08	0.15	0.711 3
A ²	0.34	1	0.34	0.70	0.442 3
B ²	0.88	1	0.88	1.78	0.239 8
C ²	5.25	1	5.25	10.66	0.022 3
残差	2.46	5	0.49		
失拟项	1.33	3	0.44	0.78	0.603 8
误差	1.13	2	0.57		
总和	44.99	14			

2.5.2 验证试验 采用 Design-Expert 8.0.6 软件中的响应优化器获得升华干燥温度、真空度、升华干燥时间 3 个影响因素的最优值点分别为 $-16.4\text{ }^\circ\text{C}$, 85 Pa 和 11.04 h ,在此条件下,预测的铁皮石斛总多糖的最大质量分数 23.63%。称取铁皮石斛鲜品 3 份,每份 150 g,按优选的工艺条件进行 3 次验证试验,结果铁皮石斛总多糖平均质量分数 23.74%,与预测值基本一致,说明建立的模型是有效的。将验证试验中 3 批样品与鲜品铁皮石斛的氨基酸指纹图谱进行相似性分析,判断是否最大程度地保留其活性组分,见图 1。结果表明铁皮石斛干燥品与鲜品的氨基酸指纹图谱相似度均 > 0.90 ,说明采用 Box-Behnken 响应面法优化的铁皮石斛真空冷冻干燥工艺条件稳定,可行性良好。

3 讨论

铁皮石斛是我国传统名贵中药材,自然生长条件苛刻,产量极低,由于其鲜品内部含水量较高且表皮包裹有厚角质层,水分外逸较慢,若不及时加工处

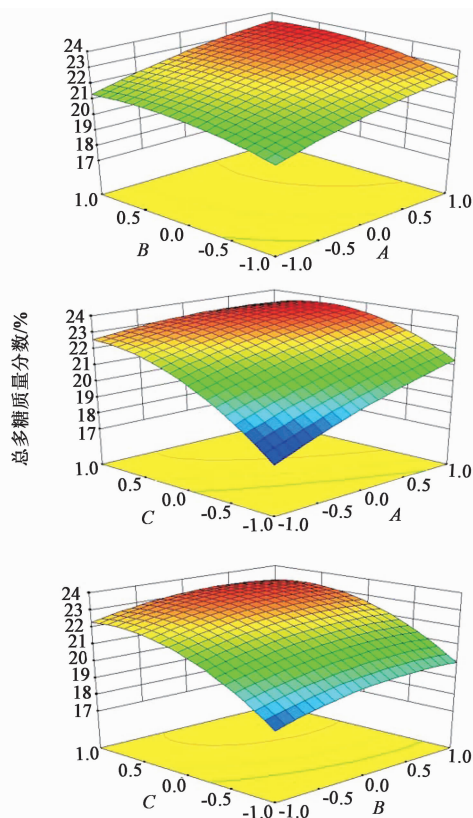


图 2 升华干燥温度、真空度、升华干燥时间交互作用对铁皮石斛总多糖含量影响的响应面

Fig. 2 Response surface plots of effect of sublimation drying temperature, vacuum degree, sublimation drying time on content of total polysaccharides in Dendrobii Officinalis Caulis

理,药材很容易霉烂变质,有效成分随之分解流失,严重影响了该药材的质量,临床应用时铁皮石斛多加工成干品备用。比较红外干燥、烘干、微波干燥、真空冷冻干燥 4 种方法,结果发现真空冷冻干燥是铁皮石斛干燥加工的最佳选择^[17]。由于真空冷冻干燥方法采用低温低压脱水方式,物料有效成分能得以最大程度保留。

本研究通过比较真空冷冻干燥后铁皮石斛样品与鲜品的氨基酸指纹图谱相似性,发现两者相似度 > 0.90 ,说明真空冷冻干燥法能够保持药材原品质的特点。真空冷冻干燥过程是先将物料本身的水分冻结到共晶点温度以下变成固态,在高真空的条件下加热使物料里的水分升华为水蒸气,再通过真空系统中的冷凝器使水蒸气冷凝下来,从而达到干燥的目的。其关键控制点包括共晶点、搁板温度、真空度、升华干燥时间、升华干燥温度、解析干燥时间、解析干燥温度等参数。通过预试验发现真空度、升华干燥时间、升华干燥温度 3 个参数变化对考察指标影响较大,故将这三者选为考察因素。

铁皮石斛中主要活性成分有石斛多糖、黄酮类、氨基酸、石斛碱等,在以铁皮石斛总黄酮含量为考察指标时,整体模型未达到显著水平,表明其方程模型不显著,模型不具有统计学意义。但以铁皮石斛总多糖含量作为评价指标时,整体模型达到显著水平($P < 0.05$),表明该二次方程模型比较显著,模型具有统计学意义,同时失拟项 $P > 0.05$,拟合程度较好。可能是在真空冷冻干燥过程中,随着不同因素水平的变化,黄酮类成分含量变化不明显,铁皮石斛总多糖对真空冷冻干燥条件变化较敏感,故最终只选定铁皮石斛总多糖作为指标成分。本研究采用 Box-Behnken 响应面法,以铁皮石斛总多糖含量作为指标,对铁皮石斛真空冷冻干燥工艺进行了优化,可为进一步研究铁皮石斛真空冷冻干燥的工业化生产提供基础数据,但冷冻干燥需在低温下进行,干燥速率相比于热风干燥和微波干燥等慢,能耗更高,如何降低能耗是以后研究铁皮石斛真空冷冻干燥的关键技术点。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:282-283.

[2] 孙恒,胡强,金航,等. 铁皮石斛化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(11):225-234.

[3] 柳莲芳. 铁皮石斛的最新研究进展[J]. 安徽农业科学,2012,40(11):6426-6428.

[4] 李玲,邓晓兰,赵兴兵,等. 铁皮石斛化学成分及药理作用研究进展[J]. 肿瘤药学,2011,1(2):90-94.

[5] 宋广青,刘新民,王琼,等. 石斛药理作用研究进展[J]. 中草药,2014,45(17):2576-2581.

[6] 林平发. 铁皮石斛化学成分及其药理作用研究进展[J]. 海峡药学,2014,26(12):40-42.

[7] 张昕,魏江存,庾延和,等. 石斛研究进展[J]. 亚太传统医药,2017,13(6):77-80.

[8] 刘倩,范颖,梁茂新. 石斛潜在功能的发掘与利用[J]. 新中医,2016,48(9):201-212.

[9] 张雅琼,丁作明,安彦峰,等. 铁皮石斛药材不同加工方法的比较[J]. 中国民族民间医药,2015,24(1):39-41.

[10] 徐兰芳,鲁芹飞,张扬,等. 干燥方法对铁皮石斛质量的影响研究[J]. 中国药房,2015,26(13):1808-1811.

[11] 闫家福,仝燕,王锦玉,等. 冷冻干燥技术及其在中药研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(12):65-68.

[12] 崔楠楠,董明,王金祥,等. 霍山石斛的真空冷冻干燥工艺研究与品质分析[J]. 食品工业,2013,34(9):3-5.

[13] 辛明,张娥珍,李楠,等. 不同干燥工艺对铁皮石斛多糖及石斛碱的影响[J]. 南方农业学报,2013,44(8):1347-1350.

[14] 林玉婷,白音,石海英. 铁皮石斛真空冷冻干燥研究[J]. 韶关学院学报,2016,37(8):59-61.

[15] 陆明,孙黛妮,汪杨,等. OPA-FMOC 联用柱前衍生化法测定复方氨基酸注射液中氨基酸的含量[J]. 药物分析杂志,2010,30(12):2323-2327.

[16] 徐向宏,何明珠. 试验设计与 Design-Expert、SPSS 应用[M]. 北京:科学出版社,2010:147-160.

[17] 辛明,张娥珍,李楠,等. 不同干燥方法对铁皮石斛多糖和甘露糖含量的影响[J]. 安徽中医药大学学报,2017,36(2):68-71.

[责任编辑 刘德文]