

草果精油提取工艺优化与成分分析

刘巨钊^{†*}, 鲜梦雪[†], 孔伟华, 田晓黎, 袁强, 崔琦^{*}

浙江中医药大学, 杭州 310053

摘要:为探究水蒸气蒸馏法和超声有机溶剂法提取草果精油的最佳提取工艺, 本文在单因素试验的基础上, 通过响应面法(response surface methodology, RSM)与反向传播人工神经网络法(back-propagation artificial neural network, BP-ANN)优化了水蒸气蒸馏法与超声有机溶剂法提取草果(*Amomum tsao-ko*)中精油类成分的工艺, 并利用气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析两种提取法获得的精油成分, 并进行模型对比。结果表明, 水蒸气蒸馏法的最佳工艺参数为浸泡时间 53.00 min、蒸馏时间 72.00 min、液固比 11.00 mL/g, 在此条件下草果精油的提取率为 1.59%, 共鉴定出 34 种成分; 超声有机溶剂法的最佳工艺条件为超声功率 150.00 W、超声时间 27.00 min、液固比 6.30 mL/g, 在此条件下草果精油的提取率为 3.70%, 共鉴定出 43 种成分。尽管使用超声有机溶剂法获得草果精油的提取率高于水蒸气蒸馏法, 但得到的精油品质差、颜色深、杂质多, 不利于后续的应用。模型对比结果表明, BP-ANN 模型比 RSM 模型在预测提取率方面误差指数更低, 拟合度更高, 具有更高的精度和预测优势。本研究将为草果精油的高效提取提供可靠的工艺参数, 也进一步促进药食同源植物草果的开发利用。

关键词:草果; 精油; GC-MS; 提取工艺; 响应面; 人工神经网络

中图分类号: TQ460.6 + 1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)5-0766-15

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.5.005

Optimization of extraction process and composition analysis of essential oil from *Amomum tsao-ko*

LIU Ju-zhao^{†*}, XIAN Meng-xue[†], KONG Wei-hua, TIAN Xiao-li, YUAN Qiang, CUI Qi^{*}

Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: In order to study the optimal extraction technology of essential oil from *Amomum tsao-ko* by steam distillation and ultrasonic organic solvent extraction. In this paper, based on single factor experiment, the extraction process of *A. tsao-ko* essential oil by steam distillation and ultrasonic organic solvent extraction was optimized by response surface methodology (RSM) and back-propagation artificial neural network (BP-ANN). Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was applied to analyze the essential oil components obtained from the two extraction methods, and the models were compared. The results showed that the optimum technological parameters of *A. tsao-ko* essential oil extraction by steam distillation were soaking time of 53.00 min, distillation time of 72.00 min, liquid to solid ratio of 11.00 mL/g, and extraction yield of 1.59%. A total of thirty-four components were identified in *A. tsao-ko* essential oil obtained by steam distillation. Under the optimum conditions of ultrasonic organic solvent extraction with ultrasonic power of 150.00 W, ultrasonic time of 27.00 min and liquid to solid ratio of 6.30 mL/g, the extraction yield was 3.40% and a total of 43 components were identified. Although the extraction yield of *A. tsao-ko* essential oil by ultrasonic organic solvent extraction was higher than that by steam distillation, the essential oil obtained by ultrasonic organic solvent extraction was poor in quality, dark in color and heavy in impurities, which was not conducive to the subsequent application. Compared with the RSM model, the BP-ANN model had a lower error-index and a higher fitting degree in predicting extraction yield, and had higher accuracy and prediction advantages. This study will provide reliable technological parameters for the efficient extraction of *A. tsao-ko* essential oil and further promote the develop-

收稿日期: 2022-10-17

接受日期: 2023-03-28

基金项目: 国家自然科学基金(82204552); 中国博士后科学基金(2021M702927); 浙江省自然科学基金(LQ22H280007); 浙江省中医药科技计划(2023ZR079)

[†] 共同第一作者

^{*} 通信作者 E-mail: 20201106@zcmu.edu.cn, zcmucq@163.com

ment and utilization of the medicinal and edible plant *A. tsao-ko*.

Key words: *Amomum tsao-ko*; essential oil; GC-MS; extraction process; response surface methodology; artificial neural network

草果(*Amomum tsao-ko*)是姜科豆蔻属多年生草本植物,为我国传统的药食同源植物,主要分布在云南、贵州、四川及广西西部^[1]。草果芳香辟秽、化湿醒脾,近年来在防疫处方中多次出现^[2]。在《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》中医治疗方案中,轻型、普通型、重型组方皆有应用草果^[3]。临床初期处方使用率达到 46.43%,临床中期处方使用率达 24.00%,是使用频次较高的药物之一^[4]。草果富含多种具有药理作用的化学成分,以挥发油为主,兼具酚类、甾体等^[5]。其中具有挥发性的草果精油作为草果的主要活性物质,主要包括苯丙素类、倍半萜类、单萜类和脂肪酸等化合物,起到抗氧化、抗菌、抗肿瘤、抗病毒、平喘、祛痰等药理作用^[6]。

常见的草果精油提取方法有微波辅助提取法、超临界二氧化碳萃取法、有机溶剂提取法、超声辅助提取法、水蒸气蒸馏法等^[7]。微波辅助提取法最具有代表性的是微波无溶剂提取法,通过考察微波功率、微波辐射时间、提取温度等条件对草果精油提取工艺进行优化,尽管该方法具有提取时间短、能耗低等优势,但同时也存在难以实现工业化的问题^[8]。超临界二氧化碳萃取法(supercritical CO₂ extraction)通常需要考察萃取压力、萃取温度、萃取时间、CO₂流量等因素,对设备要求较高^[9]。水蒸气蒸馏法是提取草果精油最常用的方法,操作简单、安全,适用于提取沸点高且与水不相溶或微溶的挥发性成分^[10]。超声辅助法通常和有机溶剂提取法联用,称为超声(辅助)有机溶剂提取法,通过对提取溶剂的种类、超声功率、提取时间、提取温度进行考察来筛选最佳工艺参数^[11]。为确定最佳提取条件,研究中常常应用各种手段进行优化。近年来最常使用响应面法(response surface methodology, RSM)模型,经过试验设计与实操得到大量数据,通过多元二次线性回归方程拟合函数、建立模型,以此确定最优条件^[12]。随着算法的发展,反向传播人工神经网络(back-propagation artificial neural network, BP-ANN)模型因其优秀的拟合度、准确性和预测能力而成为优化提取工艺的有力工具。该模型能很好处理有噪声和缺失的数据,且可从实验数据中学习^[13]。BP-ANN模型在预测提取率方面具有高精度,在拟合实验数据方面具有较强的优化能力^[14];在多因素多水

平的优化试验中具有 RSM 模型不可比拟的优势^[15]。结合遗传算法(GA),能做到全局寻优,获取最佳工艺条件。以往研究鲜有使用 BP-ANN 法对草果精油进行提取工艺优化,该优化方法能够为后续的相关工作提供理论参考。

本研究采用水蒸气蒸馏法及超声有机溶剂法提取草果中的精油,本实验对所采用的水蒸气蒸馏法提取草果精油所使用的精油提取器进行改良,使冷凝部分在提取过程中温度更低。通过单因素试验、RSM 及 BP-ANN 优化提取条件并对比优化模型,获取最佳工艺参数,为草果精油的高效提取、精准应用提供数据支撑;通过气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析草果精油组成成分,探究其药效物质基础,促进中药草果的现代化应用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

草果购自云南福贡;色谱纯正己烷(美国 Merck 公司);分析纯无水硫酸钠(天津市永大化学试剂有限公司);其他相关试剂均为分析纯。

Mettler-Toledo ME 分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);KQ-250DB 超声提取仪(昆山市超声仪器有限公司);RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);Milli-Q IQ 7000 超纯水仪(德国 Merck 公司);岛津 GC-MS QP2010 气质联用仪(日本 Shimadzu 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 精油提取

1.2.1.1 水蒸气蒸馏法

草果阴干后粉碎,过 50 目筛。称取草果粉末 30.00 g,置 500 mL 圆底烧瓶中,按液固比 10 mL/g 加入蒸馏水,浸泡 60 min 后进行水蒸气蒸馏提取,提取时间 60 min。提取后,将精油层与水层分离,置于离心管内,加入无水硫酸钠,取出上层油状液体即得。分析天平测量精油质量,置于 4 °C 冰箱保存备用^[16]。

1.2.1.2 超声有机溶剂法

称取 30.00 g 经粉碎的 50 目草果粉末,按液固比 7 mL/g 加入石油醚,置于超声功率为 150 W 的超声提取仪中提取 30 min,温度控制在 1~5 °C。提取完成后抽滤,滤液旋蒸至无石油醚味,称重,计算

提取率,在 4 °C 条件下密封保存^[17]。

1.2.2 单因素试验

称取 30.00 g 粒径为 50 目的草果粉末,分别进行水蒸气蒸馏法的液固比(mL/g)、浸泡时间(min)、蒸馏时间(min)和超声有机溶剂法的超声功率(W)、提取时间(min)、液固比(mL/g)单因素试验。

水蒸气蒸馏法:液固比单因素试验,分别采用液固比 8、10、12 mL/g,浸泡时间 30 min,蒸馏时间 60 min;浸泡时间单因素试验,分别采用浸泡时间 30、60、90 min,液固比为 10 mL/g,蒸馏时间 60 min;蒸馏时间单因素试验,分别采用蒸馏时间 30、60、90 min,液固比为 10 mL/g,浸泡时间为 30 min。

超声有机溶剂法:超声功率单因素试验,分别采

用超声功率 50、100、150 W,提取时间 20 min,液固比 5 mL/g;提取时间单因素试验,分别采用提取时间 10、20、30 min,超声功率 100 W,液固比 5 mL/g;液固比单因素试验,分别采用液固比 3、5、7 mL/g,超声功率为 100 W,提取时间为 20 min。

1.2.3 RSM 优化

在单因素试验的基础上,以草果精油提取率为响应值,分别以水蒸气蒸馏法中的浸泡时间(X_1)、蒸馏时间(X_2)、液固比(X_3)以及超声有机溶剂法中的超声功率(A)、提取时间(B)、液固比(C)为自变量,采用 Box-Behnken Design 模型进行三因素三水平实验设计,因素水平见表 1。

表 1 因素水平表
Table 1 Factors and levels

水平 Level	因素 Factor					
	X_1 (min)	X_2 (min)	X_3 (mL/g)	A (W)	B (min)	C (mL/g)
-1	30	30	8	50	10	3
0	60	60	10	100	20	5
1	90	90	12	150	30	7

1.2.4 BP-ANN 优化

本实验以 RSM 试验的 17 组数据训练 ANN。分别以浸泡时间、蒸馏时间、液固比及超声功率、提取时间、液固比 3 个节点作为 BP-ANN 输入层,以草果精油提取率作为输出层,应用 Matlab 软件(R2016a 版)神经网络工具箱,设置 RSM 试验中 11 组数据作为训练样本,3 组数据作为验证样本,剩余 3 组数据作为测试样本。设置隐藏层数目为 1,隐藏层神经元数量可根据 Kolmogorov 定理确定,即 n_2 为隐藏层神经元数目, n_1 为输入层节点数目, m 为输出层节点数目, a 为 1~10 之间的常数^[18]。通过遗传算法对 BP-ANN 模型进行寻优,设置最大迭代次数 200,种群规模 20,交叉概率 0.75。

1.2.5 GC-MS 分析条件

GC 条件:色谱柱 HP-5ms(30 m × 250 μm × 0.25 μm),柱初温 60 °C,保留 2 min 后,以 6 °C/min 速率升温至 120 °C,保留 2 min,再以 5 °C/min 速率升温至 180 °C,最后以 30 °C/min 升温至 280 °C,进样口温度 230 °C,载气 N_2 ,载气流量 1.0 mL/min,不分流,进样量 1 μL^[19]。

MS 条件:EI 离子源,电离能源 70 eV,扫描范围

m/z 29~500,离子源温度 230 °C,GC/MS 接口温度 280 °C。通过 NIST14 标准谱数据库并结合文献资料完成结构鉴定。

1.3 数据处理

使用 Design-Expert 8 软件进行 RSM 实验设计与结果分析,Matlab(R2016a)软件训练 BP-ANN 并进行验证。所有试验均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 水蒸气蒸馏法单因素试验结果

2.1.1 液固比对精油提取率的影响

由图 1 可见,液固比为 10 mL/g 时提取率最高,为 1.40%。液固比在 8~10 mL/g 内,草果精油的提取率与液固比正相关;液固比为 12 mL/g 时草果精油的提取率略微下降。在水蒸气蒸馏过程中,液固比较小时,水散作用不彻底,无法充分浸润草果粉末,导致精油得率较低;适当增大液固比,能促进水散作用,加快精油浸出。随着液固比持续增大,加水量过多,一方面,虽然精油充分释放,但总量不再增加,精油部分成分在水中溶解量相应提高,于溶剂中损失量增加,故精油得率下降;另一方面,液固比过高,使混合液中精油浓度降低,单位时间内挥发出的

精油量略微减少,故精油得率下降^[7]。

2.1.2 浸泡时间对精油提取率的影响

由图1可见,浸泡时间为60 min时草果精油提取率最高,为1.30%。浸泡时间在30~60 min,草果精油的提取率与浸泡时间正相关,浸泡时间达到90 min时提取率略微下降。一方面,使用蒸馏水浸泡草果粉末时,水分子穿过固液界面和生物膜,渗透到草果细胞内,使草果粉末中的化学物质浸入蒸馏水中,在细胞内外形成浓度差,有利于草果化学成分的传质^[7];另一方面,浸泡可使草果组织细胞间隙变大和充分膨胀,通过加速细胞内外物质的动态交换来促进精油成分的浸出。但水和油本身互不相溶,不断增加浸泡时间并不会使精油提取率有所增高。因此合适处理浸泡时间能使草果精油有效成分充分浸出,使精油提取率达到最高^[20]。

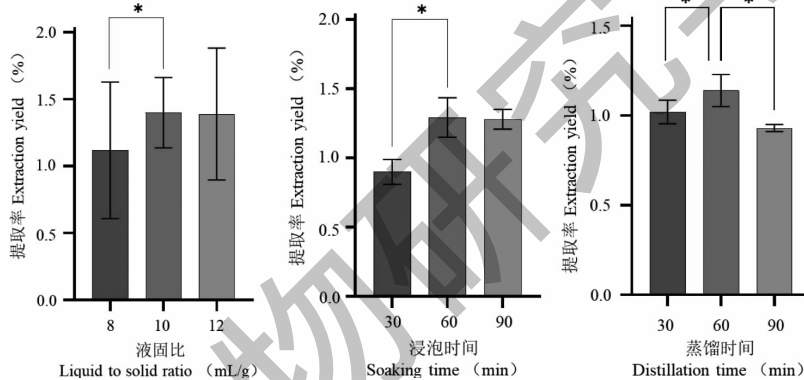


图1 水蒸气蒸馏法单因素对草果精油提取率的影响

Fig. 1 Effect of various factor on the extraction yield of *A. tsao-ko* essential oil by steam distillation

注: * $P < 0.05$, 差异显著, 下同。Note: * $P < 0.05$, significant difference, the same below.

相比于以往研究,本实验考察了浸泡时间对水蒸气蒸馏法提取草果精油提取率的影响,对干材料适当浸泡有助于减少水蒸气蒸馏时间,同时由于本实验对精油提取器冷凝部分进行改良,所以相对而言精油得率更高。以往研究中使用单因素试验对水蒸气蒸馏法提取草果精油的工艺参数进行优化的实验研究较少,与之相似的实验中,液固比、浸泡时间、蒸馏时间对精油提取率的影响趋势与本实验相同^[22]。

2.2 超声有机溶剂法单因素试验结果

2.2.1 超声功率对精油提取率的影响

由图2可知,随着超声功率的增大,草果精油提取率增高。当超声功率为150 W时,草果精油提取率最高,为2.7%。当大量的超声波作用于提取介

2.1.3 蒸馏时间对精油提取率的影响

由图1分析,蒸馏时间为60 min时草果精油提取率最高,为1.14%。蒸馏时间在30~60 min内,草果精油提取率与蒸馏时间正相关;蒸馏时间为90 min,草果精油提取率下降,为0.93%。在水蒸气蒸馏过程中,草果粉末充分浸泡湿润,随着温度升高,混合液中各组分的蒸气压之和达到标准大气压,混合液沸腾,草果粉末中挥发性较强的物质易被水蒸气带出,冷却后与水分离^[20]。适当延长蒸馏提取时间,水蒸气充分将草果精油带出,从而提高草果精油提取率。但蒸馏时间过长,会造成草果精油化学性质发生变化,且产生的蒸汽量增多,不利于出油;蒸馏时间过长,也会导致精油损失,使草果精油提取率降低;蒸馏时间过长,还会造成草果精油中热敏性物质的损失,产生蒸煮味,影响草果精油品质^[21]。

质时,体系的液体内存在张力弱区,这些区域内的液体会被撕裂成许多小空穴,这些小空穴会迅速胀大和闭合,使液体微粒间发生猛烈的撞击作用^[23]。在适当的范围内,草果精油提取率随着超声功率的提高而增加,超声有机溶剂萃取有助于提高精油的提取效率。

2.2.2 提取时间对精油提取率的影响

由图2可见,超声时间为30 min时提取率最高,为2.9%。超声时间在10~30 min内,草果精油提取率与超声时间正相关。超声低温、高效的破坏功能,可在短时间内对细胞壁进行破碎,加速溶剂对精油的溶解和渗透,使草果精油快速释放,提高精油提取含量。超声时间过短,草果细胞壁不能被完全破坏,精油渗出率低,故提取率较低。适当延长超声

时间,能提高草果细胞壁破坏程度,从而提高草果精油渗出率。过长的超声时间,会使草果其他成分渗出,从而影响精油的溶解效果,导致精油提取率降低。

2.2.3 液固比对精油提取率的影响

由图2可见,液固比在3~7 mL/g内,草果精油提取率与液固比正相关,结果与预实验相符。当液

固比为7 mL/g时,草果精油提取率最大,为2.8%。有机溶剂增加可使其与草果粉末的接触面积增大,使其反应更加充分,因此有利于草果精油的渗出。经过检索相关文献,当液固比的比例过大时,导致非有效成分提取量大,反应成本相应增加,最终使草果精油提取率下降。

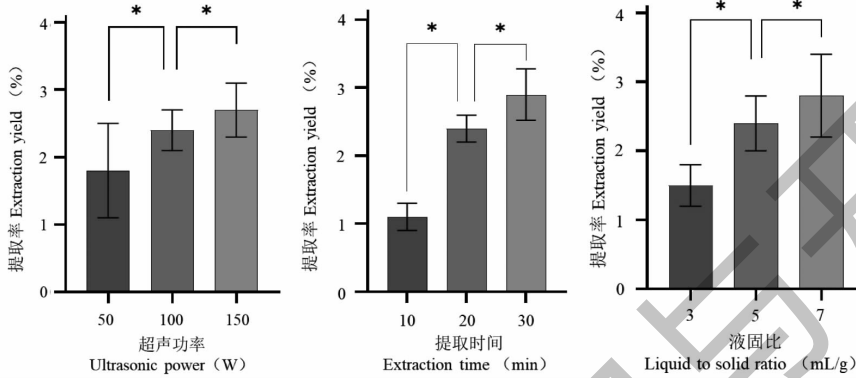


图2 超声有机溶剂法单因素对草果精油提取率的影响

Fig. 2 Effect of various factor on the extraction yield of *A. tsao-ko* essential oil by ultrasonic organic solvent extraction

与类似研究相比,本实验使用石油醚(60~90)作为超声辅助提取法提取溶剂。也有类似研究采用乙醚或沸程为30~60的石油醚,这两种提取溶剂与本实验所使用的溶剂相比,更容易进行后续操作,但是从安全性的角度考虑,乙醚和沸程更低的石油醚

存在一定的安全隐患,所以本实验并未采用上述溶剂^[24,25]。

2.3 RSM 实验结果

水蒸气蒸馏法提取草果精油的RSM实验结果及方差分析见表2和3。

表2 草果精油水蒸气蒸馏提取法实验结果

Table 2 Experimental result of the model for the extraction yield of *A. tsao-ko* essential oil by steam distillation

序号 Runs	X_1 (min)	X_2 (min)	X_3 (mL/g)	提取率 Extraction yield (%)
1	-1 (30)	-1 (30)	0 (10)	0.88
2	1 (60)	-1 (30)	0 (10)	1.19
3	-1 (30)	1 (90)	0 (10)	1.02
4	1 (90)	1 (90)	0 (10)	1.27
5	-1 (30)	0 (60)	-1 (8)	0.90
6	-1 (30)	0 (60)	-1 (8)	1.02
7	-1 (30)	0 (60)	1 (12)	1.14
8	1 (90)	0 (60)	1 (12)	1.36
9	0 (60)	-1 (30)	-1 (8)	0.92
10	0 (60)	1 (90)	-1 (8)	1.25
11	0 (60)	-1 (30)	1 (12)	1.11
12	0 (60)	1 (90)	1 (12)	1.33
13	0 (60)	0 (60)	0 (10)	1.36
14	0 (60)	0 (60)	0 (10)	1.46
15	0 (60)	0 (60)	0 (10)	1.43
16	0 (60)	0 (60)	0 (10)	1.51
17	0 (60)	0 (60)	0 (10)	1.60

表 3 苹果精油水蒸气蒸馏提取法方差分析

Table 3 ANOVA statistics of the model for the extraction yield of *A. tsao-ko* essential oil by steam distillation

方差来源 Source of variance	F	P	显著性 Significance
模型 Model	8.86	0.004 4	*
X_1	11.08	0.012 6	*
X_2	8.11	0.024 8	*
X_3	9.88	0.016 3	*
X_1X_2	0.10	0.762 8	
X_1X_3	0.27	0.617 1	
X_2X_3	0.33	0.583 0	
X^2	21.25	0.002 5	*
X^2	12.89	0.008 9	*
X^3	10.68	0.013 7	*
失拟项 Lack of fit	1.31	0.387 6	#
R^2	0.919 3		

注: * $P < 0.05$, 差异显著; # $P > 0.05$, 差异不显著。

Note: * $P < 0.05$, significant difference; # $P > 0.05$, no significant difference.

应用 Design-Expert 软件对实验结果进行多元回归拟合分析, 得到各因子与响应值的回归方程为:

$$Y = 1.47 + 0.11X_1 + 0.096X_2 + 0.11X_3 + 0.015X_1X_2 + 0.025X_1X_3 - 0.028X_2X_3 - 0.21X_1^2 - 0.17X_2^2 - 0.15X_3^2$$

式中: Y 为苹果挥发油提取率的预测值, X_1 、 X_2 和 X_3 分别为浸泡时间、蒸馏时间和液固比的编码值。对该方程进行显著性检验, 结果见表 2 和表 3。

根据表 3, 由方差分析可知: 模型的 $F = 8.86$, $P < 0.05$, 表明实验所采用的二次模型是显著的, 在统计学上具有意义。失拟项用来表示所用模型与实验拟合的程度, 即二者差异的程度。本实验失拟项 $P > 0.05$, 对模型有利, 无失拟因素存在, 因此可用该回归方程代替试验真实点对实验结果进行分析。因素 X_1 浸泡时间、 X_2 蒸馏时间和 X_3 液固比的 P 值 <

0.05, 说明 X_1 、 X_2 、 X_3 对提取率影响显著。二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 的 P 值 < 0.05 , 说明 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对提取率具有显著影响。交互项 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 的 P 值 > 0.05 , 对提取率无显著影响。

根据水蒸气蒸馏法提取过程二次线性回归方程得出不同因素的三维 RSM 图 (见图 3)。从三维 RSM 图中可直观得出不同水蒸气蒸馏法提取条件相互作用的提取率变化过程。当图中曲线坡度较大时, 说明该条件对苹果精油的提取过程影响显著; 当图中曲线坡度较平滑时, 说明该提取条件对苹果精油的提取过程影响较小。综合三维 RSM 图及方差 P 值分析, 液固比与蒸馏时间的交互作用对响应值影响最大; 各因素对苹果精油提取率的影响由大到小顺序是: 蒸馏时间、液固比、浸泡时间。

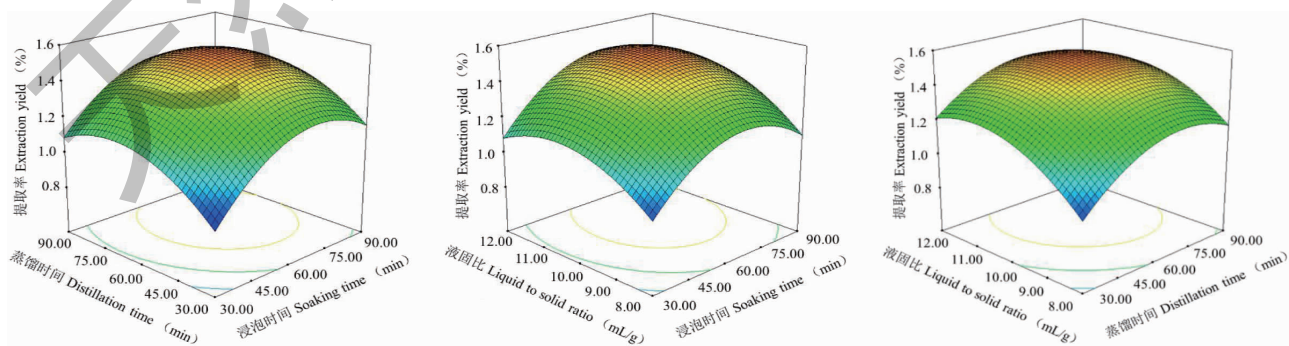


图 3 浸泡时间和蒸馏时间、液固比和蒸馏时间、液固比和浸泡时间的交互作用

Fig. 3 Interaction between soaking time and distillation time, liquid to solid ratio and distillation time, liquid to solid ratio and soaking time

超声有机溶剂法提取草果精油的 RSM 实验结果及方差分析见表 4 和表 5。

表 4 草果精油超声有机溶剂提取法实验结果

Table 4 Experimental result of the model for the extraction yield of *A. tsao-ko* essential oil by ultrasonic organic solvent extraction

序号 Runs	A(W)	B(min)	C(mL/g)	提取率 Extraction yield(%)
1	-1(50)	-1(10)	0(5)	2.3
2	1(150)	-1(10)	0(5)	2.7
3	-1(50)	1(30)	0(5)	2.5
4	1(150)	1(30)	0(5)	3.5
5	-1(50)	0(20)	-1(3)	1.7
6	-1(50)	0(20)	-1(3)	1.8
7	-1(50)	0(20)	1(7)	2.2
8	1(150)	0(20)	1(7)	3.2
9	0(100)	-1(10)	-1(3)	2.3
10	0(100)	1(30)	-1(3)	2.2
11	0(100)	-1(10)	1(7)	1.4
12	0(100)	1(30)	1(7)	3.2
13	0(100)	0(20)	0(5)	3.0
14	0(100)	0(20)	0(5)	2.6
15	0(100)	0(20)	0(5)	2.8
16	0(100)	0(20)	0(5)	3.0
17	0(100)	0(20)	0(5)	3.1

表 5 草果精油超声有机溶剂提取法方差分析

Table 5 ANOVA statistics of the model for the extraction yield of *A. tsao-ko* essential oil by ultrasonic organic solvent extraction

方差来源 Source of variance	F	P	显著性 Significance
模型 Model	5.96	0.014 0	*
A	8.58	0.022 1	*
B	10.01	0.015 9	*
C	5.49	0.051 6	
AB	0.99	0.353 3	
AC	2.22	0.179 5	
BC	9.91	0.016 2	*
A ²	0.46	0.518 4	
B ²	0.12	0.743 8	
C ²	15.29	0.005 8	*
失拟项 Lack of fit	3.98	0.107 7	#
R ²	0.884 5		

注: * $P < 0.05$, 差异显著; # $P > 0.05$, 差异不显著。

Note: * $P < 0.05$, significant difference; # $P > 0.05$, no significant difference.

应用 Design-Expert 软件对实验结果进行多元回归拟合分析,得到各因子与响应值的回归方程如下。

$$Y = 2.90 + 0.31A + 0.34B + 0.25C + 0.15AB +$$

$$0.23AC + 0.47BC - 0.10A^2 - 0.05B^2 - 0.58C^2$$

式中: Y 为草果挥发油提取率的预测值, A 、 B 和 C 分别为超声功率、提取时间和液固比的编码值。对该方程进行显著性检验,方差分析结果见表 5,模

型的 $F = 5.96, P < 0.05$, 表明该模型显著, 失拟项 $P > 0.05$, 不显著, 说明该回归模型与该实际试验有较好的拟合性。因素 A 超声功率和 B 提取时间的 P 值 < 0.05 , 二次项 C^2 的 P 值 < 0.05 , 交互项 BC 的 P 值 < 0.05 , 对提取率具有显著影响。

图 4 为超声有机溶剂提取法提取苹果精油提取

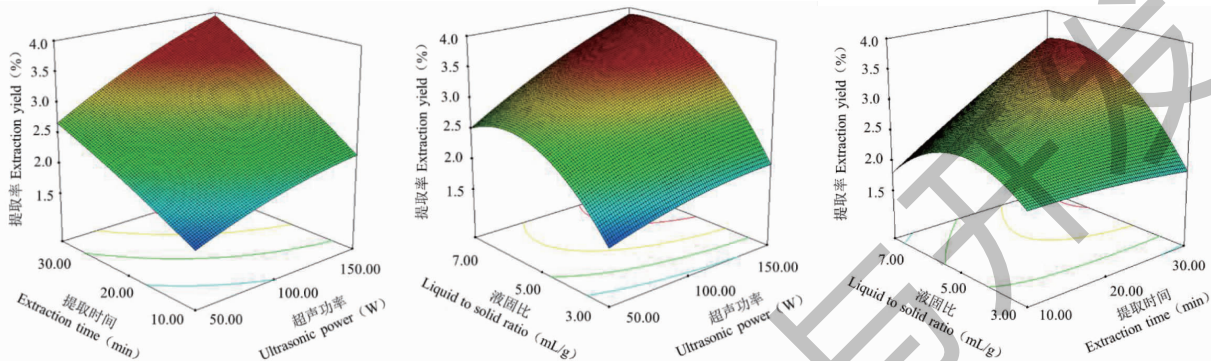


图 4 超声功率和提取时间、超声功率与液固比、提取时间与液固比的交互作用

Fig. 4 Interaction between ultrasonic power and extraction time, ultrasonic power and liquid to solid ratio, extraction time and liquid to solid ratio

RSM 法常用于筛选工艺参数, 在精油的提取中有广泛应用。本研究建立的三因素三水平 RSM 模型中, 模型项显著, 失拟项不显著, 模型拟合成功, 预测结果准确。在水蒸气蒸馏法中, 由于考虑了浸泡时间这一容易被忽略的因素和对实验设备的改进, 所以相比于以往研究, 本实验水蒸气蒸馏时间更短, 精油得率更高, 提取率更高。

2.4 BP-ANN 模型

BP-ANN 的训练结果见图 5 和图 6。结果表明, 水蒸气蒸馏法和超声有机溶剂法的均方误差 (mean-square error, MSE) 分别为 0.002 612 3 和 0.017

335, 训练回归曲线相关系数 $R = 0.973 52$ 和 $0.997 55$, 验证回归曲线相关系数 $R = 0.973 9$ 和 $0.993 4$, 测试回归曲线相关系数 $R = 0.939 83$ 和 $0.920 9$, 总回归曲线相关系数 $R = 0.968 55$ 和 $0.982 64$ 。几乎所有的实验点都分布在对角线附近, 这表明实验结果与 ANN 预测的数据具有显著的兼容性^[26]。随着 MSE 值的减小, R 值趋近于 1, 拟合程度愈高, 本模型中的训练、验证及总数据的拟合程度均达到较高水准, 说明利用该神经网络预测苹果精油提取的可行性强。

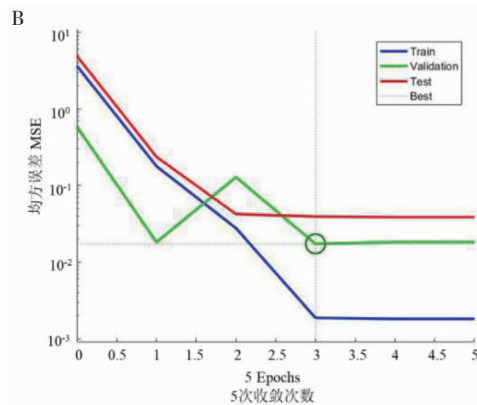
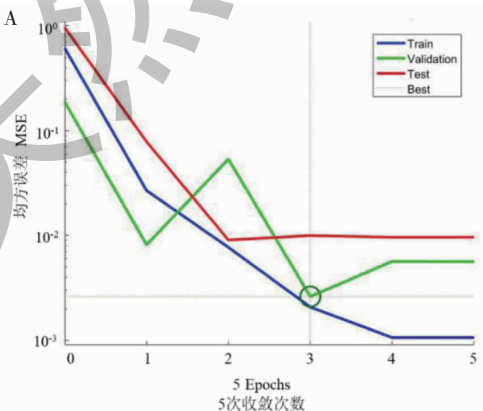


图 5 水蒸气蒸馏法 (A) 和超声有机溶剂法 (B) 的均方误差图

Fig. 5 Mean squared error plots of steam distillation (A) and ultrasonic organic solvent extraction (B)

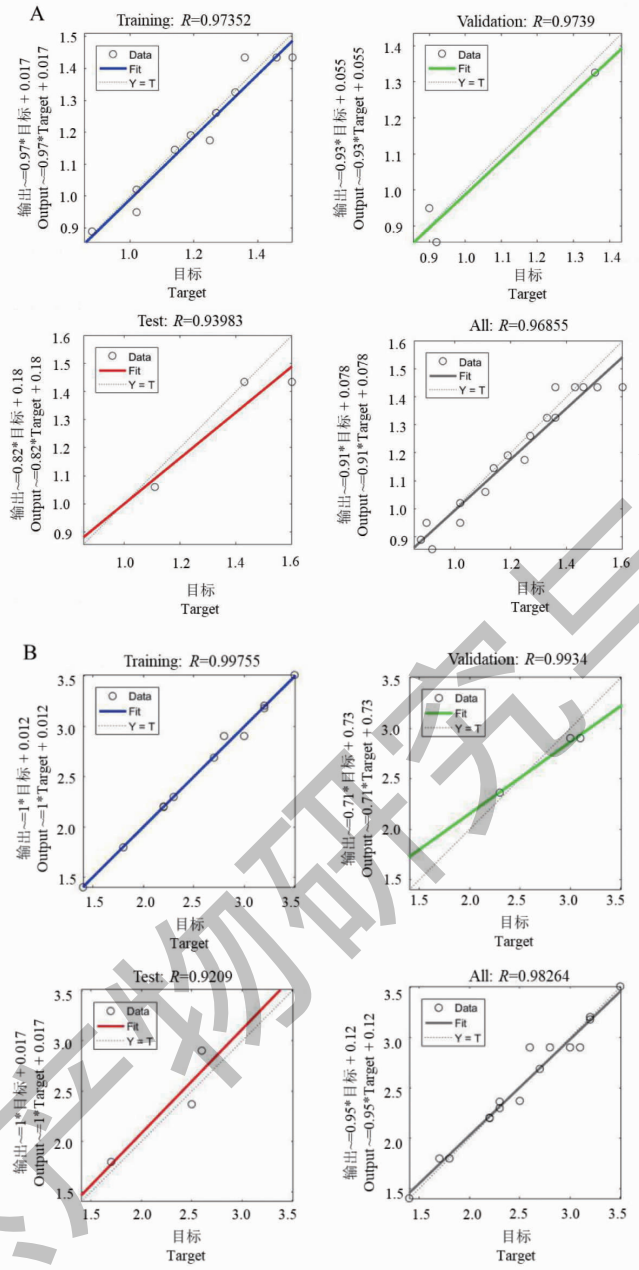


图6 水蒸气蒸馏法(A)和超声有机溶剂法(B)的实验数据与每一步计算的神经网络数据的散点比较图

Fig. 6 The scatter diagrams that compare the experimental data (target) against the computed neural network data in each step of steam distillation (A) and ultrasonic organic solvent extraction (B)

2.5 模型比较

利用RSM分析所得回归方程计算得出苹果精油的最佳工艺参数,其中水蒸气蒸馏法为浸泡时间68.21 min、蒸馏时间67.20 min、液固比10.70 mL/g、预测提取率1.52%;超声有机溶剂法为超声功率112.50 W,提取时间29.50 min,液固比6.50 mL/g,预测提取率3.50%。考虑到实际操作的局限性,将苹果精油水蒸气蒸馏法的提取条件设置为浸泡时间

68.00 min、蒸馏时间66.00 min、液固比10.7 mL/g,超声有机溶剂法的提取条件设置为超声功率100.00 W、提取时间29.50 min、液固比6.50 mL/g。在此条件下,苹果精油的提取率分别为1.55%和3.40%,与预测值基本相符,证实了RSM方程的准确性和实用性。

通过遗传算法对BP-ANN模型进行寻优预测的苹果精油最佳提取工艺如下:水蒸气蒸馏法为浸泡

时间 53.39 min、蒸馏时间 69.48 min、液固比 11.05 mL/g;超声有机溶剂法为超声功率 150.00 W、提取时间 26.82 min、液固比 6.33 mL/g。结合实际操作,最终将水蒸气蒸馏法及超声有机溶剂法提取草果精油的条件设置为浸泡时间 53.00 min、蒸馏时间 72.00 min、液固比 11.00 mL/g 超声功率 150.00 W、提取时间 27.00 min、液固比 6.30 mL/g。提取结果表明,草果精油提取率分别为 1.59% 和 3.70%,与

预测值的相对误差分别为 1.24% 和 2.11%。BP-ANN 与 RSM 的结果比较见表 6。与 RSM 模型相比,BP-ANN 模型在预测提取率方面具有更高的精度^[14],并且在拟合实验数据方面具有更大的优化能力,误差指数更低,具有更高的预测优势^[27]。尽管超声有机溶剂法提取草果精油的提取率高于水蒸气蒸馏法,但得到的精油品质差、颜色深、杂质多,与之相比水蒸气蒸馏法可获得品质较佳的精油。

表 6 BP-ANN、RSM 试验优化提取工艺验证结果及对比

Table 6 Verification results and comparison of optimized extraction process of BP-ANN and RSM

优化方法 Optimization method	草果精油提取率 Extraction yield of essential oil from <i>Amomum tsao-ko</i>		相对误差 Relative error (%)
	预测值 Predictive value (%)	实际值 Practical value (%)	
	水蒸气蒸馏法 RSM	1.52	
水蒸气蒸馏法 BP-ANN	1.61	1.59	1.24
超声有机溶剂法 RSM	3.50	3.40	2.86
超声有机溶剂法 BP-ANN	3.78	3.70	2.11

2.6 草果精油化学成分分析结果

采取 GC-MS 技术分别对水蒸气蒸馏法及超声有

机溶剂法提取的草果精油进行成分分析,获得总离子流图(见图 7 和 8),从 5 min 开始进行信号采集。

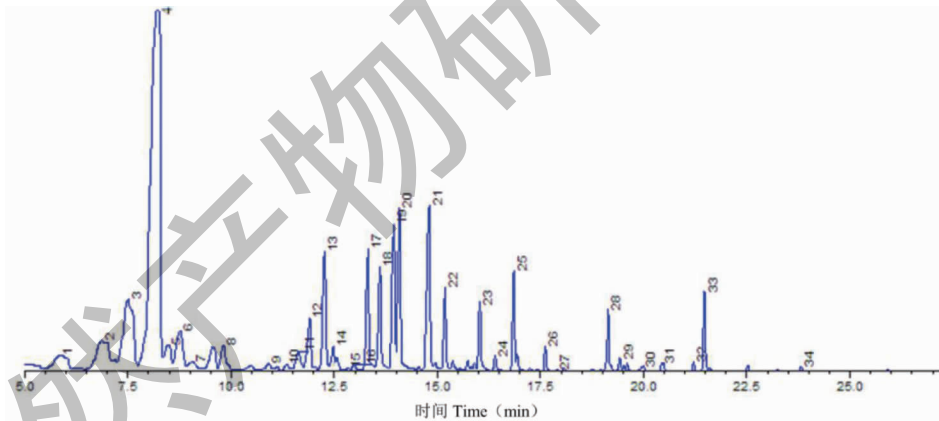


图 7 水蒸气蒸馏法草果精油总离子流图

Fig. 7 Total ion chromatogram of *A. tsao-ko* essential oil by steam distillation

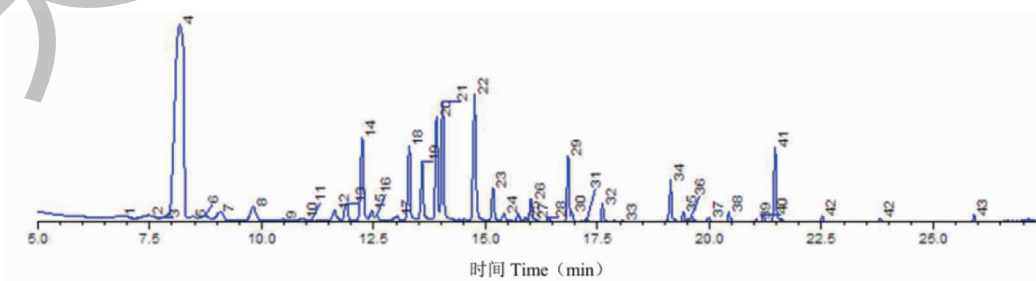


图 8 超声有机溶剂法草果精油总离子流图

Fig. 8 Total ion chromatogram of *A. tsao-ko* essential oil by ultrasonic organic solvent extraction

采用峰面积归一化法计算各组分的百分含量,根据 NIST14 数据库,结合相关文献,水蒸气蒸馏提取法共鉴定出 34 个组分(见表 7),占总物质的 97.32%,其中主要类别为萜类,有单萜 6 种,含氧单萜 15 种,倍半萜 2 种和含氧倍半萜 4 种,共占总物质 81.28%^[28]。其中含量较高成分的有 12 种:1,8-桉叶素(36.00%)、 α -水芹烯(7.56%)、4-丙基苯甲醛(5.65%)、反式-柠檬醛(4.76%)、反式-2-癸烯醛

(4.45%)、 α -萜品醇(4.02%)、顺式-柠檬醛(3.79%)、 β -蒎烯(3.72%)、反式-香叶醇(3.29%)、顺式-香叶醇(2.72%)、乙酸香叶酯(2.39%)、(-)-4-萜品醇(2.11%),共占总物质的 80.46%。超声有机溶剂提取法共鉴定出 43 个组分(见表 8),占总物质的 98.94%。主要成分也为萜类,其中 5 种单萜,19 种含氧单萜,5 种倍半萜和 6 种含氧倍半萜,占 78.62%。其中含量较高的有 10

表 7 水蒸气蒸馏法得到草果精油的 GC-MS 分析

Table 7 GC-MS analysis of *A. tsao-ko* essential oil extracted by steam distillation

序号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物 Compound	类型 Type	分子式 Molecular formula	CAS	相对含量 Relative content (%)	匹配度 Matching degree(%)
1	5.858	α -蒎烯 α -Pinene	单萜	$C_{10}H_{16}$	80-56-8	1.69	96.00
2	6.875	β -蒎烯 β -Pinene	单萜	$C_{10}H_{16}$	2437-95-8	3.72	91.00
3	7.508	α -水芹烯 α -Phellandrene	单萜	$C_{10}H_{16}$	99-3-2	7.56	88.00
4	8.225	1,8-桉叶素 1,8-Cineole	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	470-82-6	36.00	97.00
5	8.475	3-萜烯 3-Carene	单萜	$C_{10}H_{16}$	13466-78-9	1.60	94.00
6	8.775	顺式-香叶醇 <i>cis</i> -Geraniol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	106-24-1	2.72	87.00
7	9.083	β -萜品醇 β -Terpineol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	138-87-4	0.57	89.00
8	9.825	芳樟醇 Linalool	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	78-70-6	1.24	93.00
9	10.917	反式-松香芹醇 <i>trans</i> -Pinocarveol	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	547-61-5	0.26	83.00
10	11.350	顺式-马鞭草烯醇 <i>cis</i> -Verbenol	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	18881-04-4	0.28	90.00
11	11.642	月桂烯醇 Myrcenol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	543-39-5	0.98	88.00
12	11.908	(-)-4-萜品醇 (-)-Terpineol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	20126-76-5	2.11	95.00
13	12.267	α -萜品醇 α -Terpineol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	98-55-5	4.02	96.00
14	12.475	(-)-顺式-桉醇 (-)- <i>cis</i> -Sabinol	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	499-44-5	1.11	90.00
15	12.833	顺式-香芹酚 <i>cis</i> -Carvacrol	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	499-75-2	0.09	87.00
16	12.983	香茅醇 Citronellol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	106-22-9	0.20	92.00
17	13.317	顺式-柠檬醛 <i>cis</i> -Citral	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	5392-40-5	3.79	95.00
18	13.608	反式-香叶醇 <i>trans</i> -Geraniol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	106-24-1	3.29	94.00
19	13.950	反式-2-癸烯醛 <i>trans</i> -2-Decenal	其它	$C_{10}H_{18}O$	3913-81-3	4.45	91.00
20	14.083	反式-柠檬醛 <i>trans</i> -Citral	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	5392-40-5	4.76	95.00
21	14.800	4-丙基苯甲醛 4-Propylbenzaldehyde	其它	$C_{10}H_{12}O$	28785-06-0	5.65	91.00
22	15.183	2-对异丙基苯甲醛 2-(Propan-2-yl) benzaldehyde	其它	$C_{10}H_{12}O$	6502-22-3	1.91	84.00
23	16.033	Indane-4-carboxaldehyde	其它	$C_{10}H_{10}O$	51932-70-8	1.87	92.00
24	16.408	(<i>E</i>)-2-癸烯-1-醇 (<i>E</i>)-2-Decen-1-ol	其它	$C_{12}H_{20}O_2$	18409-18-2	0.36	81.00
25	16.850	乙酸香叶酯 Geranyl acetate	单萜	$C_{12}H_{20}O_2$	16409-44-2	2.39	92.00
26	17.617	(<i>E</i>)-2-Decenyl acetate	其它	$C_{12}H_{20}O_2$	2497-23-6	0.46	96.00
27	17.900	(+)-马鞭草酮 (+)-Verbenone	单萜	$C_{10}H_{14}O$	18309-32-5	0.02	83.00
28	19.142	2-十二碳烯醛 2-Dodecenal	其它	$C_{12}H_{22}O$	4826-62-4	1.34	93.00
29	19.425	γ -衣兰油烯 γ -Muurolene	倍半萜	$C_{15}H_{24}$	24268-39-1	0.52	93.00
30	19.958	罗汉柏烯 Thujopsene	倍半萜	$C_{15}H_{24}$	470-40-6	0.20	82.00

续表 7 (Continued Tab. 7)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物 Compound	类型 Type	分子式 Molecular formula	CAS	相对含量 Relative content (%)	匹配度 Matching degree (%)
31	20.442	萜澄茄醇 Cubebol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	481-34-5	0.29	84.00
32	21.208	萜澄茄油烯醇 Cubenol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	21284-22-0	0.16	91.00
33	21.475	反式-橙花叔醇 <i>trans</i> -Nerolidol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	40716-66-3	1.60	95.00
34	23.817	α -桉叶醇 α -Eudesmol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	473-15-1	0.11	89.00

表 8 超声有机溶剂法得到草果精油的 GC-MS 分析

Table 8 GC-MS analysis of *A. tsao-ko* essential oil extracted by ultrasonic organic solvent extraction

序号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物 Compound	物质类型 Compound type	分子式 Molecular formula	CAS	相对含量 Relative content (%)	匹配度 Matching degree (%)
1	6.874	β -蒎烯 β -Pinene	单萜	$C_{10}H_{16}$	2437-95-8	0.37	87.00
2	7.483	正辛醛 Octanal	单萜	$C_{10}H_{16}$	124-13-0	0.62	81.00
3	7.625	α -水芹烯 α -Phellandrene	单萜	$C_{10}H_{16}$	99-3-2	0.09	87.00
4	8.168	1,8-桉叶素 1,8-Cineole	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	470-82-6	38.09	94.00
5	8.461	3-蒎烯 3-Carene	单萜	$C_{10}H_{16}$	13466-78-9	0.25	88.00
6	8.728	2-辛烯醛 2-Octenal	其它	$C_9H_{16}O$	2363-89-5	0.42	85.00
7	9.086	β -蒎品醇 β -Terpineol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	138-87-4	1.09	84.00
8	9.821	芳樟醇 Linalool	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	78-70-6	1.70	90.00
9	10.476	反式-薄荷醇 <i>trans</i> -Menthol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	75363-64-5	0.11	82.00
10	10.921	反式-松香芹醇 <i>trans</i> -Pinocarveol	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	547-61-5	0.23	87.00
11	11.125	顺式-马鞭草烯醇 <i>cis</i> -Verbenol	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	18881-04-4	0.06	79.00
12	11.630	月桂烯醇 Myrcenol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	543-39-5	0.98	88.00
13	11.897	(-)-4-蒎品醇 (-)-4-Terpineol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	20126-76-5	1.43	94.00
14	12.248	α -蒎品醇 α -Terpineol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	98-55-5	6.08	95.00
15	12.461	(-)-顺式-桉醇 (-)- <i>cis</i> -Sabinol	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	499-44-5	0.84	91.00
16	12.567	顺式-香芹酚 <i>cis</i> -Carvacrol	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	499-75-2	0.33	81.00
17	13.036	香茅醇 Citronellol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	106-22-9	0.43	91.00
18	13.293	顺式-柠檬醛 <i>cis</i> -Citral	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	5392-40-5	4.60	95.00
19	13.583	反式-香叶醇 <i>trans</i> -Geraniol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	106-24-1	3.78	94.00
20	13.910	反式-2-癸烯醛 <i>trans</i> -2-Decenal	其它	$C_{10}H_{18}O$	3913-81-3	5.67	91.00
21	14.043	反式-柠檬醛 <i>trans</i> -Citral	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	5392-40-5	7.07	96.00
22	14.756	4-丙基苯甲醛 4-Propylbenzaldehyde	其它	$C_{10}H_{12}O$	28785-06-0	8.05	84.00
23	15.167	2-对异丙基苯甲醛 2-(Propan-2-yl) benzaldehyde	其它	$C_{10}H_{12}O$	6502-22-3	1.81	84.00
24	15.411	(1S,2S,3R,5S)-(+)-蒎烷二醇 (+)-Pinediol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O_2$	18680-27-8	0.60	79.00
25	15.893	柠檬烯氧化物 Limonene oxide	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	214-805-1	0.16	79.00
26	16.014	Indane-4-carboxaldehyde	其它	$C_{10}H_{10}O$	51932-70-8	1.22	92.00
27	16.100	顺式-桃金娘烷醇 <i>cis</i> -Myrtenol	含氧单萜	$C_{10}H_{18}O$	51152-12-6	0.10	82.00
28	16.406	β -胡萝卜素 β -Carotene	其它	$C_{40}H_{56}$	7235-40-7	0.20	78.00
29	16.843	乙酸香叶酯 Geranyl acetate	单萜	$C_{12}H_{20}O_2$	16409-44-2	2.95	89.00

续表 8 (Continued Tab. 8)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物 Compound	物质类型 Compound type	分子式 Molecular formula	CAS	相对含量 Relative content (%)	匹配度 Matching degree (%)
30	16.929	α -萜澄茄油烯 α -Cubebene	倍半萜	$C_{15}H_{24}$	17699-14-8	0.43	82.00
31	17.257	异薄荷醇 Isomenthol	含氧单萜	$C_{10}H_{16}O$	23283-97-8	0.13	75.00
32	17.609	(<i>E</i>)-2-Decenyl acetate	其它	$C_{12}H_{20}O_2$	2497-23-6	0.78	96.00
33	18.067	石竹烯 Caryophyllene	倍半萜	$C_{15}H_{24}$	87-44-5	0.11	85.00
34	19.130	2-十二碳烯醛 2-Dodecenal	其它	$C_{12}H_{22}O$	4826-62-4	2.17	93.00
35	19.416	γ -衣兰油烯 γ -Muurolene	倍半萜	$C_{15}H_{24}$	24268-39-1	0.43	93.00
36	19.600	大根香叶烯 D Germacrene D	倍半萜	$C_{15}H_{24}$	37839-67-3	0.29	91.00
37	19.993	α -衣兰油烯 α -Muurolene	倍半萜	$C_{15}H_{24}$	10208-80-7	0.26	83.00
38	20.428	萜澄茄醇 Cubebol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	481-34-5	0.60	83.00
39	21.048	绿花白千层醇 Melaleucol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	552-02-3	0.11	76.00
40	21.202	萜澄茄油烯醇 Cubenol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	21284-22-0	0.34	90.00
41	21.463	反式-橙花叔醇 <i>trans</i> -Nerolidol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	40716-66-3	3.51	95.00
42	23.810	α -桉叶醇 α -Eudesmol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	473-15-1	0.17	84.00
43	25.905	α -红没药醇 α -Bisabolol	含氧倍半萜	$C_{15}H_{26}O$	515-69-5	0.28	80.00

种:1,8-桉叶素(38.09%)、4-丙基苯甲醛(8.05%)、反式-柠檬醛(7.07%)、 α -萜品醇(6.08%)、反式-2-癸烯醛(5.67%)、顺式-柠檬醛(4.60%)、反式-香叶醇(3.78%)、反式-橙花叔醇(3.51%)、乙酸香叶酯(2.95%)、2-十二碳烯醛(2.17%)，共占总物质的81.97%。上述结果表明，不同提取方法对精油成分影响较大，上述两种提取工艺所得精油中相同组分共有29种，其中含量最高组分均为1,8-桉叶素，是草果中重要的活性物质之一。水蒸气蒸馏提取所得挥发油特有成分5种，占总组分的4.99%；超声有机溶剂提取所得挥发油特有成分14种，占总组分的3.82%，其中含有 β -胡萝卜素及所含烯类成分较少可能是超声有机溶剂法提取得到的草果精油颜色偏深的原因。从成分上看，本研究所采用的两种提取方法相比，水蒸气蒸馏法获取到的精油质量、成分均较少，是由于水蒸气蒸馏法需要持续加热，获取到的精油成分存在具有热稳定更好的特点；一些热稳定性差的亲脂性成分以 β -胡萝卜素为代表，使用石油醚可以一同被提取出来，从精油定义的角度讲这些成分是杂质，也表明水蒸气蒸馏法提取的草果精油品质更好^[29]。因此水蒸气蒸馏法提取的草果精油品质较佳，便于后续应用。

3 讨论与结论

采用并比较了水蒸气蒸馏法和超声有机溶剂法

提取草果精油，通过单因素、RSM 及 BP-ANN 优化草果精油的提取条件，水蒸气蒸馏法和超声有机溶剂法的最佳工艺参数为：浸泡时间 53.00 min、蒸馏时间 72.00 min、液固比 11.00 mL/g 和超声功率 150 W、超声时间 27 min、液固比 6.3 mL/g，在此条件下，草果精油的提取率分别为 1.59% 和 3.70%。实验结果表明与 RSM 模型相比，BP-ANN 模型无论在优化能力还是预测精度上均具有更好的表现，可以显著提高预测能力和稳定性，在多因素问题的处理中可行性高且优势明显。

通过 GC-MS 鉴定并比较了使用水蒸气蒸馏法和超声有机溶剂法提取的草果精油成分，分别为 34 和 43 种，其中含量较高的是 1,8-桉叶素，还有 α -水芹烯、4-丙基苯甲醛、反式-柠檬醛、反式-2-癸烯醛、 α -萜品醇、顺式-柠檬醛、 β -蒎烯、反式-香叶醇、顺式-香叶醇、乙酸香叶酯、(-)-4-萜品醇等。其主要成分 1,8-桉叶素可能是其实现抗菌、抗肿瘤、抗病毒等药理作用的重要基础，在草果精油中含量高，具有极大的开发潜力^[30]。研究证明，草果精油可以与气溶胶中的 SARS-CoV-2 刺突蛋白 RBD 相互作用，阻断 RBD 和 hACE2 的相互作用，抑制其与受体结合，切断传播途径，在阻断病毒气溶胶传播方面有着极大的潜力^[31]。本研究可以为草果精油的进一步开发利用提供新的思路，推动其应用革新，拓宽其走向中

医药现代化的道路。

参考文献

- Petrasch S, Knapp SJ, Van Kan JAL, et al. Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea* [J]. *Mol Plant Pathol*, 2019, 20: 877-892.
- Zhang SC, Yan ZJ, Zhang XC, et al. Syndrome differentiation and treatment of traditional Chinese medicine for novel coronavirus pneumonia [J]. *Shandong J Tradit Chin Med* (山东中医杂志), 2020, 39: 315-319.
- Li Y, Shi HX, Zhou J, et al. Analysis of the dose of traditional Chinese medicines in the formula of TCM treatment regimens in the diagnosis and treatment protocol for COVID-19 (Trial Version 8) [J]. *Chin Pharm* (中国药业), 2021, 30: 117-122.
- Xu LH, Li YR, Zheng DR, et al. Prescription law of new coronavirus pneumonia in different stages [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2020, 26: 8-16.
- Xie ZR, Yu YL, Pu ZH, et al. Research progress on chemical constituents of *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire [J]. *J Chengdu Univ Tradit Chin Med D* (成都中医药大学学报), 2020, 43: 75-80.
- Chen SX. Study on chemical constituents and biological activities of *Amomum tsaoko* [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology (昆明理工大学), 2021.
- Lei ZD, Huang SY. Research progress on extraction method, biological activity and clinical application of Caoguo (*Amomum tsao-ko*) [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药学刊), 2021, 39: 245-249.
- Cui Q, Wang LT, Liu JZ, et al. Rapid extraction of *Amomum tsao-ko* essential oil and determination of its chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1061: 364-371.
- Wang DY, Chen XP, Meng YD, et al. Optimization of supercritical CO₂ extraction of coriander essential oil by response surface methodology [J]. *Cereals Oils* (粮食与油脂), 2022, 35: 64-67.
- Liang M, Zhang ZM, Wu YJ, et al. Progress on research and application of spice *Amomum tsaoko* [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2023, 44: 427-435.
- Guo M, Song JF, Dou HG. Study on essential oils of *Amomum tsao-ko* ultrasonic assisted extraction and its antioxidant activity [J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2017, 38: 58-61.
- Durante M, Ferramosca A, Treppiccione L, et al. Application of response surface methodology (RSM) for the optimization of supercritical CO₂ extraction of oil from patè olive cake: yield, content of bioactive molecules and biological effects *in vivo* [J]. *Food Chem*, 2020, 332: 127405.
- Abdullah S, Pradhan RC, Pradhan D, et al. Modeling and optimization of pectinase-assisted low-temperature extraction of cashew apple juice using artificial neural network coupled with genetic algorithm [J]. *Food Chem*, 2021, 339: 127862.
- Rashid T, Taqvi SAA, Sher F, et al. Enhanced lignin extraction and optimisation from oil palm biomass using neural network modelling [J]. *Fuel*, 2021, 293: 120485.
- Chen JY, Kong WH, Huang Y, et al. The extraction technology and antioxidant activity of kernel oil in *Myrica rubra* cv. Dongkui [J]. *J Chin Cereals Oils Assoc* (中国粮油学报), 2022, 37: 169-174.
- Kant R, Kumar A. Review on essential oil extraction from aromatic and medicinal plants: techniques, performance and economic analysis [J]. *Sustain Chem Pharm*, 2022, 30: 100829.
- Wang JJ, Li YK, Lu QW, et al. Drying temperature affects essential oil yield and composition of black cardamom (*Amomum tsao-ko*) [J]. *Ind Crop Prod*, 2021, 168: 113580.
- Li BQ, Guo JJ, Hu WZ, et al. Optimization of the extraction process of *Dendrobium officinale* polysaccharide based on GA-BPNN [J]. *J Zhejiang Sci Technol Univ: Nat Sci* (浙江理工大学学报: 自然科学版), 2021, 45: 697-703.
- Kang HD, Zhao XH, Zhang XX, et al. Study on the enzyme-assisted extraction process of essential oil from *Ledum palustre* L. and its antioxidant activity [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2022, 34: 1678-1689.
- Yin CY, Liu BY, Wang P, et al. Eucalyptol alleviates inflammation and pain responses in a mouse model of gout arthritis [J]. *Brit J Pharmacol*, 2020, 1: 2042-2057.
- Shen H, Tang YL, Du CY, et al. Gas chromatography-mass spectrometry analysis for volatile oil from *Amomum tsao-ko* by different extraction methods [J]. *Food Ferment Sci Technol* (食品与发酵科技), 2021, 57: 145-151.
- Cheng Q. Application of microwave assisted technology in extraction of plant essential oil based on novel solvents [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology (浙江工业大学), 2017.
- Li YB, Pan ZC, Wang BS, et al. Ultrasound-assisted extraction of bioactive alkaloids from *Phellodendri amurensis* cortex using deep eutectic solvent aqueous solutions [J]. *New J Chem*, 2020, 44: 9172-9178.
- Zhang YY, Li JF, Zhou F, et al. Optimization of simultaneous distillation and extraction process of fenugreek essential oil [J]. *Cereals Oils* (粮食与油脂), 2022, 35: 72-74.

- 25 Chen HX, Zhou H, Ye JZ, et al. Matrix solid-phase dispersion combined with GC-MS for determination of chemical constituents of essential oil in agarwood[J]. Chem Ind Forest Prod (林产化学与工业), 2021, 41:47-54.
- 26 Cui Q, Liu JZ, Yu L, et al. Experimental and simulative studies on the implications of natural and green surfactant for extracting flavonoids[J]. J Clean Prod, 2020, 274:122652.
- 27 Esonye C, Onukwuli OD, Anadebe VC, et al. Application of soft-computing techniques for statistical modeling and optimization of *Dyacrodes edulis* seed oil extraction using polar and non-polar solvents[J]. Heliyon, 2021, 7:e06342.
- 28 Darabad AH, Rahimi M, Rafati H. Continuous hydrodistillation-ultrasonication flow batch-mode operation system to enhance essential oil extraction from *Satureja khuzistanica* and evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity[J]. Ind Crop Prod, 2022, 188:115540.
- 29 Pavlič B, Teslić N, Zengin G, et al. Antioxidant and enzyme-inhibitory activity of peppermint extracts and essential oils obtained by conventional and emerging extraction techniques [J]. Food Chem, 2021, 338:223-232.
- 30 Yin XY, Wang YY. Research progress on pharmacological activities and mechanism of 1,8-cineole[J]. Chem Life(生命的化学), 2020, 40:2026-2034.
- 31 Liu JZ, Lyu HC, Fu YJ, et al. *Amomum tsao-ko* essential oil, a novel anti-COVID-19 Omicron spike protein natural products; a computational study [J]. Arab J Chem, 2022, 15: 103916.

(上接第 765 页)

- 15 Liu YB, Qin JJ, Cheng XR, et al. Three new neolignans and one new phenylpropanoid from the leaves and stems of *Toona ciliata* var. *pubescens* [J]. Helv Chim Acta, 2011, 94:1685-1691.
- 16 Yang YN, Han B, Yang PF, et al. A concise approach for determining the relative configuration of H-7 and H-8 in 8,4'-oxyneolignans by ¹H NMR spectroscopy [J]. Org Chem Front, 2019, 6:886-891.
- 17 Nawwar MAM, Buddrus J, Bauer H. Dimeric phenolic constituents from the roots of *Tamarix nilotica* [J]. Phytochemistry, 1982, 21:1755-1758.
- 18 Li D, Liu MS, Li ZL, et al. Studies on chemical constituents of *Heliciopsis lobata* II [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33:409-411.
- 19 Yu M, Ran HL, Mei WL, et al. Study on chemical constituents and their anti-inflammatory activity from stems of *Strophanthus divaricatus* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2022, 34:57-62.
- 20 Cui ZX, Xu W, Yang XW, et al. Chemical constituents of lipophilic parts in water extract from stem of *Mahonia fortunei* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2018, 49:80-89.
- 21 Zhang GJ, Pan QM, Zhang YL, et al. Coumarinolignoids and taraxerane triterpenoids from *Sapium discolor* and their inhibitory potential on microglial nitric oxide production [J]. J Nat Prod, 2018, 81:2251-2258.