

· 中药工业 ·

Box-Behnken 响应面法优化宣木瓜药材、 饮片一体化加工工艺[△]

钱岩, 于生, 单鸣秋, 姚卫峰, 张丽*

(南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/

中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏 南京 210023)

[摘要] 目的: 建立和优化适宜的药材、饮片一体化加工工艺。方法: 以齐墩果酸和熊果酸总量为指标, 结合外观性状, 单因素考察蒸制时间、干燥温度和干燥时间对宣木瓜饮片的影响, 应用响应面法优化一体化加工工艺。结果: 宣木瓜烫 5 min 后, 再继续蒸 4 min, 切薄片, 60 ℃干燥 5 h 为最佳工艺。结论: 该工艺与传统饮片炮制工艺相比较, 在保证饮片质量的同时, 也降低了生产成本, 提高了生产效率。

[关键词] 宣木瓜; 一体化加工; 响应面

Optimization of Integrated Processing Technology for Medicinal Materials and Decoction Pieces of *Chaenomeles speciosa* by Box-Behnken Design and Response Surface Method

QIAN Yan, YU Sheng, SHAN Mingqiu, YAO Weifeng, ZHANG Li*

(Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, and National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To establish and optimize the appropriate integrated processing technology of medicinal materials and decoction pieces of *Chaenomeles Speciosa*. **Methods:** The appearance character and content of oleanolic acid and ursolic acid were set as the study indicators to investigate the impact of the steaming time, drying temperature and drying time on *Chaenomeles speciosa*. The Box-Behnken central composite design in the response surface analysis was adopted to optimize the preparation conditions. **Results:** The appropriate integrated processing technology was follows: the time of heating up in hot water was 5 minutes, the steaming time was 4 minutes, the drying temperature was 60 ℃, and the drying time was 5 hours. **Conclusion:** Compared with the traditional processing technology, the integrated processing technology ensures the drug quality, reduces the cost of production and improves production efficiency.

[Keywords] *Chaenomeles speciosa*; integrated processing; response surface method

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2015.10.017

木瓜是蔷薇科植物贴梗海棠 *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai 的干燥近成熟果实。安徽宣城木瓜品质优良,《本草纲目》记载:木瓜处处有之,而宣城者为佳,故称宣木瓜。木瓜作为常用中药,具有舒筋活络,和胃化湿的功能^[1]。

响应面方法(response surface methodology, RSM)是利用合理的试验设计,采用多元二次回归方

程来拟合因素与响应值之间的函数关系,通过对回归方程的分析来寻求最优工艺参数,解决多变量问题的一种统计方法^[2-3]。《中华人民共和国药典》2010 版(一部)对木瓜的产地加工和饮片炮制方法分别做了规定;相关文献对宣木瓜产地加工的研究主要集中于熟晒法和生晒法的比较^[4-8],饮片炮制集中于不同炮制品质量标准研究^[9-11]。上述药材、饮片

[△] [基金项目] 2011 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心建设首批重点项目(ZDXM-1-3);江苏高校优势学科建设工程资助项目(YSXK-2014);江苏高校品牌专业建设工程资助项目(PPZY2015A070)

* [通信作者] 张丽,博士生导师,教授,研究方向:中药炮制与质量控制研究;Tel:(025)85811509, E-mail:zhangliguanxiong@163.com

分别加工的方式虽然有利于长途运输与贮藏,但重复了干燥等环节,整体增大了饮片的生产成本。为减少药材加工与饮片加工过程中的重复环节,拟以中华人民共和国药典规定的熊果酸和齐墩果酸总含量为指标,利用响应面法优选药材、饮片加工工艺参数,建立适宜的宣木瓜药材、饮片一体化加工方法,形成具有推广价值的实用技术。

1 仪器与试药

2695 型高效液相色谱仪、2998 PDA 型紫外检测器(美国 Waters 公司);电子天平(BP211D 型,0.01 mg,赛多利斯科学仪器有限公司);离心机(Anke TGL-16B,上海安亭科学仪器厂);电热恒温鼓风干燥箱(HG-9023A,上海精宏实验设备有限公司);超声清洗器(KH-500B,额定功率 500 W,额定频率 40 Hz,昆山市超声仪器有限公司)。

宣木瓜鲜品 7 月采自安徽宣城新田镇,经南京中医药大学吴啟南教授鉴定为蔷薇科植物贴梗海棠 *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai 的近成熟果实。齐墩果酸对照品、熊果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110709-201206,110742-201220);超纯水(Milli-Q 超纯水系统制备);甲醇为色谱纯(山东禹王实业有限公司);其余试剂为分析纯。

2 方法

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Agilent HC C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(265:35:0.1:0.05);检测波长:210 nm;柱温:18 ℃;流速:1 mL·min⁻¹;进样量 20 μL。

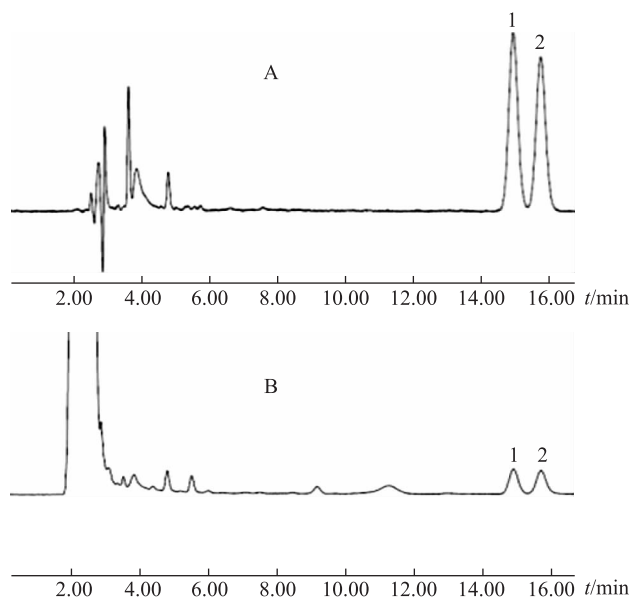
2.1.2 对照品溶液的制备 称取齐墩果酸、熊果酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 mL 含 0.111 mg 齐墩果酸、0.098 mg 熊果酸的混合对照品溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品粉末约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定重量。超声处理(功率为 500 W,频率为 40 kHz)20 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得^[1]。

2.1.4 水分的测定 取本品粉末,按《中华人民共和国药典》2010 版第一法(烘干法)测得水分。

2.2 数据处理

在单因素试验结果基础上优选蒸制时间、干燥温



注: A. 对照品; B. 样品; 1. 齐墩果酸; 2. 熊果酸。

图 1 宣木瓜对照品及样品 HPLC 图

度、干燥时间对本试验有关键影响的 3 个因素,设定试验因素与水平,根据试验设计原理采用 3 因素 3 水平共计 17 个试验点。以熊果酸、齐墩果酸总含量为响应值,通过响应曲面分析进行工艺条件的优化,并运用 Design-Expert 8.0 软件对数据进行回归分析,得到拟合方程, $P < 0.01$, 模型拟合极具统计学意义,失拟项 $P > 0.05$, 实测值与预测值之间差异不具有统计学意义,该数学模型具有较好的预测性。

3 结果与分析

3.1 宣木瓜药材、饮片一体化加工工艺单因素试验

3.1.1 蒸制时间对熊果酸齐墩果酸总量的影响 将宣木瓜鲜品洗净,置沸水中烫 5 min,继续蒸 0、5、10 min,切片,80 ℃干燥 6 h,打粉,过 100 目筛。按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,经 HPLC 法测定熊果酸和齐墩果酸的总量,平行 3 份,以考察蒸制时间对宣木瓜中熊果酸和齐墩果酸总含量的影响。结果表明,在烫 5 min 后,继续蒸 0、5、10 min 的宣木瓜中分别含 0.539%、0.575%、0.511% 的齐墩果酸和熊果酸,即蒸 5 min 的宣木瓜中齐墩果酸和熊果酸的总含量最高。

3.1.2 干燥温度对熊果酸齐墩果酸总量的影响 将宣木瓜鲜品洗净,置沸水中烫 5 min,继续蒸 5 min,切片,分别在 60、70、80、90 ℃干燥 6 h,打粉,过 100 目筛。按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,经 HPLC 法测定熊果酸和齐墩果酸的总量,平行 3

份,以考察干燥温度对宣木瓜中熊果酸和齐墩果酸总含量的影响。结果表明,经 60、70、80、90 ℃干燥相同时间的宣木瓜中分别含 0.771%、0.498%、0.456%、0.397% 的熊果酸和齐墩果酸,即随着干燥温度的增加,宣木瓜中熊果酸和齐墩果酸的总含量逐渐减少。

3.1.3 干燥时间对熊果酸齐墩果酸总量的影响 宣木瓜鲜品洗净,置沸水中烫 5 min,继续蒸 5 min,切片,分别在 60 ℃条件下干燥 4、6、8、10、12 h,打粉,过 100 目筛。按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,经 HPLC 法测定熊果酸和齐墩果酸的总量,平行 3 份,以考察干燥温度对宣木瓜中熊果酸和齐墩果酸总含量的影响。结果表明,经 60 ℃干燥 4、6、8、10、12 h 的宣木瓜中分别含 0.577%、0.440%、0.482%、0.428%、0.431% 的齐墩果酸和熊果酸,随着干燥时间的延长,宣木瓜中熊果酸和齐墩果酸的总含量趋于减少。

表 1 不同加工方法对宣木瓜外观性状的影响

加工方法		外观性状
烫制时间/min	5	灰白色,硬度适中,切薄片
	10	灰白色,软,部分表皮炸裂,切片不成形
	15	灰白色,软,表皮炸裂,切片不成形
蒸制时间/min	0	灰白色,硬度适中,切薄片
	5	灰白色,硬度适中,切薄片
	10	灰白色,硬度偏软,切厚片
	15	灰白色,表皮炸裂,软,切片不成形
干燥温度/℃	60	饮片为黄色,质地脆
	70	饮片为黄色,部分为红色,质地脆
	80	饮片为红棕色,质地脆

3.2 响应面优化试验

以单因素试验结果为依据,根据 Box-Behnken 的设计原理,以蒸制时间(A)、干燥温度(B)、干燥时间(C)3 个因素为自变量,每个因素取 3 个水平,分别以 -1、0、1 编码,以熊果酸、齐墩果酸总量为响应值,进行 3 因素 3 水平试验,见表 2。

表 2 Box-Behnken 中心组合因素水平表

因素	水平		
	-1	0	1
A/min	0	5	10
B/℃	60	70	80
C/h	4	6	8

以 Design-Expert 8.0 软件对表 2 结果进行响应面回归分析,以熊果酸、齐墩果酸总量为响应值,结果见表 3,得到拟合方程:

$$Y(\%) = -0.50163 - 0.0007685 \times A + 0.031530 \times B + 0.16148 \times C + 0.0004155 \times AB + 0.003845 \times AC - 0.000295 \times BC - 0.0063699 \times A^2 - 0.000270975 \times B^2 - 0.015543 \times C^2 (r = 0.9973, P < 0.0001)$$

表 3 Box-Behnken 试验设计方案及结果

试验号	A	B	C	OAU 总含量(%)
1	0	0	0	0.7614
2	0	-1	-1	0.7730
3	-1	-1	0	0.7272
4	-1	0	1	0.5014
5	0	0	0	0.7595
6	0	0	0	0.7699
7	0	1	1	0.5583
8	1	0	1	0.4662
9	0	0	0	0.7624
10	1	0	-1	0.5005
11	-1	1	0	0.5559
12	0	0	0	0.7509
13	0	1	-1	0.6706
14	1	1	0	0.4633
15	-1	0	-1	0.6895
16	0	-1	1	0.6843
17	1	-1	0	0.5515

注:1. 木瓜烫制 5 min,蒸制 5 min,70 ℃干燥 6 h 所得。

方差分析及回归系数显著性检验结果见表 4,拟合得到的回归方程 $P < 0.01$,表明该模型在本试验研究范围内有统计学意义。因素 A、B、C、AC、AB、 A^2 、 B^2 、 C^2 对饮片中熊果酸和齐墩果酸含量的影响差异极具统计学意义($P < 0.01$),因素 BC 对其影响差异无统计学意义($P > 0.05$),因此各因素对响应值的影响不是简单的线性关系,所选因素之间存在显著的交互作用。本模型差异极具统计学意义($P < 0.01$),失拟项 $P = 0.1561 > 0.05$,相对于绝对误差差异不具有统计学意义,说明该回归模型与试验数据拟合程度较高,误差小,可以用于优选宣木瓜药材、饮片一体化加工工艺。

利用 Design-Expert 8.0 软件进行拟合,直观了解各因素之间两两交互作用对宣木瓜药材、饮片一体化加工工艺的影响,见图 2~4。图 2、图 3 分别显

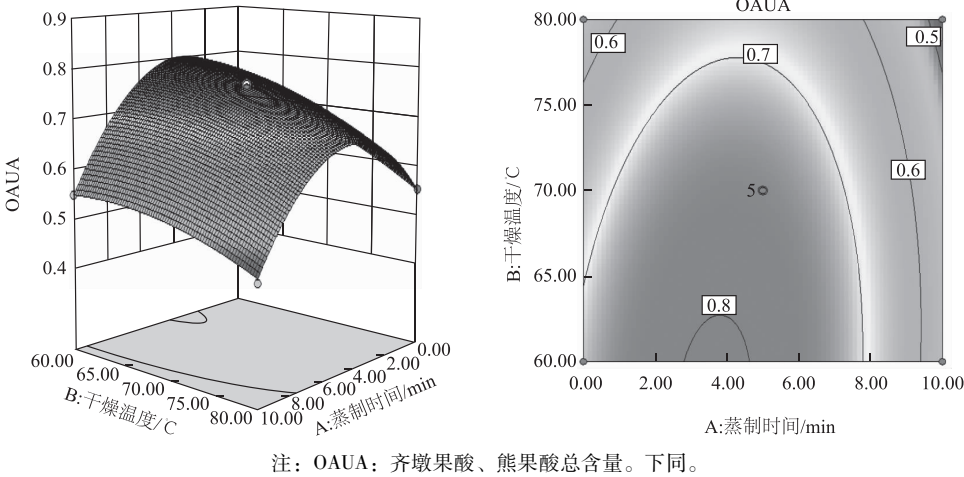
表 4 回归模型方差分析结果

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.220	9	0.025	287.99	<0.000 1
A	0.030	1	0.030	349.84	<0.000 1
B	0.030	1	0.030	343.33	<0.000 1
C	0.022	1	0.022	258.56	<0.000 1
AB	0.001 73	1	0.001 73	19.92	0.002 9
AC	0.005 91	1	0.005 91	68.23	<0.000 1
BC	0.000 139	1	0.000 139	1.61	0.245 5
A ²	0.110	1	0.110	1 232.04	<0.000 1
B ²	0.003 09	1	0.003 09	35.67	0.000 6
C ²	0.016 0	1	0.016	187.79	<0.000 1
残差	0.000 607	7	0.000 086 7		
失拟项	0.000 421	3	0.000 140	3.03	0.156 1
误差	0.000 185	4	0.000 046 4		
总离差	0.230	16			

注: $P < 0.05$ 为差异有统计学意义; $P < 0.01$ 为差异极具统计学意义。

示了蒸制时间与干燥温度交互作用、蒸制时间与干燥时间交互作用的影响, 两张图响应面坡度陡峭, 其等高线为椭圆形, 说明这两个交互作用较强, 对齐墩果酸和熊果酸总含量的影响显著。图 4 显示了干燥时间与干燥温度的交互作用, 此响应面坡度平缓, 等高线近似圆形, 说明干燥温度与干燥时间的交互作用较弱, 对饮片中齐墩果酸和熊果酸含量的影响较小。

根据 Design-Expert 8.0 软件分析计算, 宣木瓜饮片加工的最佳工艺: 烫制时间为 5 min, 蒸制时间为 3.52 min, 干燥温度为 60 ℃, 干燥时间为 5.05 h, 理论计算齐墩果酸和熊果酸的含量为 0.818 9%, 为方便操作, 将最佳工艺修正为烫 5 min, 继续蒸 4 min, 60 ℃干燥 5 h。



注: OUA: 齐墩果酸、熊果酸总含量。下同。

图 2 蒸制时间与干燥温度的交互作用响应面及等高线

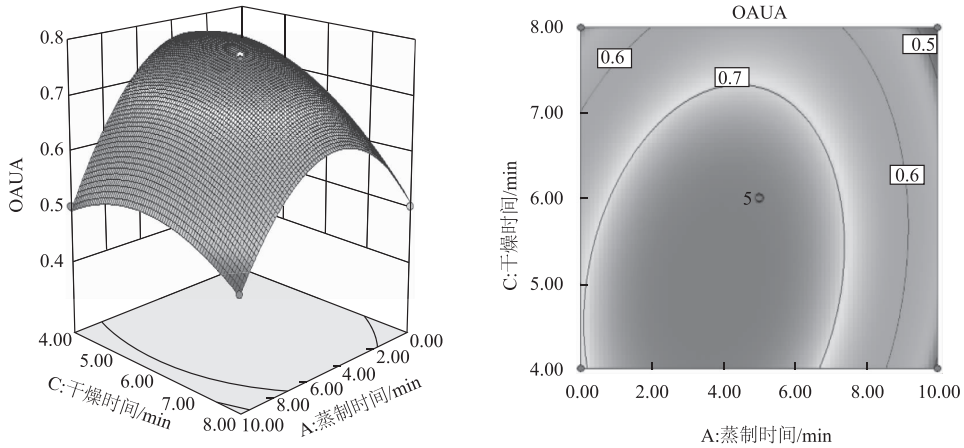


图 3 蒸制时间与干燥时间的交互作用响应图及等高线

3.3 验证性试验

取鲜宣木瓜 6 个, 按照优化出的最佳一体化加工工艺, 打粉, 过 100 目筛, 按 2.1.3 项下方法制

备供试品溶液, 经 HPLC 法测定熊果酸和齐墩果酸的总量, 平行 3 份, 得出熊果酸和齐墩果酸的总含量分别为 0.816 2%、0.814 0%、0.817 8%, 平均

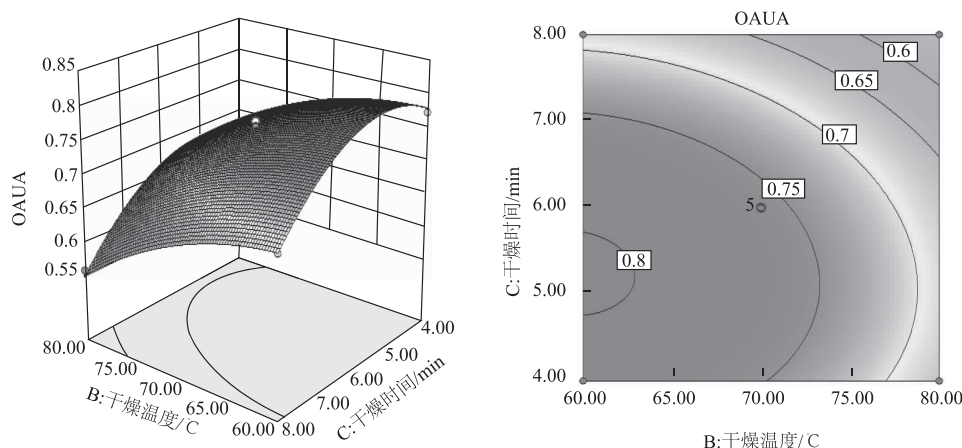


图 4 干燥时间与干燥温度的交互作用响应面及等高线

含量为 0.816 0%，与预测值 0.818 9% 的相对误差为 0.35%，证明回归模型较为准确可靠，优化出的一体化加工工艺具有良好的重复性和可操作性。

4 讨论与结果

经预试，宣木瓜经烫 5 min，继续蒸 5 min 齐墩果酸和熊果酸的总含量高于未蒸制的宣木瓜，故将蒸制时间作为考察因素之一。同时宣木瓜在沸水中烫 5 min，外观达到中华人民共和国药典要求的灰白色，继续延长烫制时间，宣木瓜表皮炸裂，切片不易成形，且齐墩果酸和熊果酸含量减少，故将烫制时间确定为 5 min，结果见表 1。另外，经预试验发现，宣木瓜切片，50 °C 干燥 6 h 后呈湿软状，其含量不符合中华人民共和国药典中对水分的要求，与 60 °C 干燥 6 h 产品相比其有效成分无明显提高，且继续延长干燥时间则增加加工成本，不利于本工艺的推广，故将干燥温度的考察范围定为 60 ~ 80 °C。

《中华人民共和国药典》2010 版规定木瓜药材夏、秋二季果实绿黄时采收，置沸水中烫至外皮灰白色，对半纵剖，晒干。木瓜饮片需洗净，润透或蒸透后切薄片，晒干。宣木瓜传统的炮制加工方法周期长，易受自然环境影响发生霉变腐烂等。按照《中华人民共和国药典》2010 版木瓜项下炮制方法，所制得宣木瓜饮片中齐墩果酸和熊果酸的总含量为 0.688 8%。采用经过响应曲面法优化的药材饮片一体化加工工艺所得饮片中齐墩果酸和熊果酸的总含量为 0.816 0%。其原因可能是宣木瓜药材产地加工、饮片炮制一体化工艺省去了分段加工所导致的再次水处理与重复干燥过程，从而降低了有效成分的损失。同时一体化工艺有效地提高了宣木瓜饮片

的加工效率，节约了时间，降低了能源消耗成本。

参考文献

- [1] 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, 2010.
- [2] 丁黎艳, 郭晏华, 黄婷, 等. 星点设计—效应面法优化补骨脂炮制工艺[J]. 中国现代中药, 2014, 23(6): 692-697.
- [3] 李光, 李学兰, 孙慧峰, 等. 响应曲面法优化铁皮石斛多糖提取条件[J]. 中国现代中药, 2012, 21(8): 917-920.
- [4] 朱晨晨, 程菁菁, 谢晓梅, 等. 中药木瓜水溶性总有机酸含量比较[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(3): 75-76.
- [5] 严宜昌, 黄鹤, 万明. 两种产地初加工方法对木瓜药材质量的影响研究[J]. 湖北中医学院学报, 2009, 11(4): 27-29.
- [6] 黄鹤, 严宜昌, 万明, 等. 两种初加工方法对木瓜药材的影响[J]. 广西师范大学学报(自然科学版), 2009, 27(4): 91-94.
- [7] 王晓阁, 龙全江, 周宙, 等. 不同产地加工法对宣木瓜药材中齐墩果酸和熊果酸含量的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(11): 75-78.
- [8] 修彦凤, 曹艳花, 王平, 等. 多指标综合评价优选木瓜润法和蒸法软化的炮制工艺[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1247-1249.
- [9] 王光宁, 杨银凤, 陈秋兰, 等. 木瓜不同炮制品中水溶性有机酸的含量比较[J]. 中国现代药物应用, 2012, 6(22): 5-6.
- [10] 王光宁, 崔升森, 梁炳健. 炮制方法对木瓜中齐墩果酸和熊果酸含量的影响[J]. 齐鲁药事, 2013, 31(12): 695-697.
- [11] 陈洪燕, 万明, 严宜昌, 等. 两种产地木瓜不同处理方法的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 湖北中医杂志, 2010, 32(2): 72-73.

(收稿日期 2015-04-14)