

基于响应面法结合熵权法多指标优选黄芪药材产地加工炮制一体化工艺

吴红伟^{1,2}, 李东辉^{1,2}, 边甜甜^{1,2}, 宋沁洁^{1,2}, 李咸慰^{1,2}, 李国峰^{1,2}, 杨新荣^{1,2}, 李越峰^{1,2,3*}

1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室, 甘肃 兰州 730000

3. 甘肃省中药制药工艺工程研究中心, 甘肃 兰州 730000

摘要: **目的** 采用响应面法结合熵权法优选黄芪药材产地加工与炮制一体化工艺。**方法** 以黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、总黄酮、总多糖、水溶性浸出物为考察指标, 以含水量(55%、50%、45%)、发汗时长(1、2、3 d)、揉搓次数(1、2、3次)、干燥温度(45、50、55 °C)为考察因素, 采用 Box-Behnken 响应面设计优化黄芪的产地加工炮制一体化工艺。**结果** 黄芪药材产地加工炮制一体化最佳工艺条件为含水量为 50%, 发汗时长 3 d, 揉搓次数 2 次, 干燥温度为 51 °C。**结论** 优选的工艺简便易行, 精确度良好, 可用于黄芪产地加工炮制一体化。

关键词: 黄芪; 产地加工炮制一体化; 响应面法; 熵权法; 多指标; 黄芪甲苷; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 芒柄花苷; 毛蕊异黄酮; 总黄酮; 总多糖; 水溶性浸出物

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)19-5854-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.19.008

Study on integrative technology of primary processing for *Astragali Radix* based on response surface method combined with entropy weight method

WU Hong-wei^{1,2}, LI Dong-hui^{1,2}, BIAN Tian-tian^{1,2}, SONG Qin-jie^{1,2}, LI Xian-wei^{1,2}, LI Guo-feng^{1,2}, YANG Xin-rong^{1,2}, LI Yue-feng^{1,2,3}

1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Key Laboratory of Standard and Quality of Chinese Medicine Research of Gansu, Lanzhou 730000, China

3. Gansu Engineering Research Center for Chinese Medicine Pharmaceutical Technology, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To optimize the integrative technology of primary processing for *Astragali Radix* by response surface methodology combined with entropy weight method. **Methods** Astragaloside IV, calycosin-7-glucoside, ononin, calycosin, total flavonoids, total polysaccharides, water-soluble extracts were used as the inspection indicators; The water content (55%, 50%, and 45%), diaphoretic time (1, 2, 3 d), kneading times (1, 2, and 3 times), drying temperature (45, 50, and 55 °C) as the investigation factors, the Box-Behnken response surface test design was used to optimize the production area of *Astragali Radix* integrated processing technology. **Results** Optimum integrative technology of primary processing was as follows: water content of 50%, diaphoretic times of 3 d, kneading times of 2 times, and drying temperature of 51 °C. **Conclusion** The optimized integrative technology of primary processing of *Astragali Radix* was easy and feasible, with high accuracy, which can be used for integrative technology of primary processing of *Astragali Radix*.

Key words: *Astragali Radix*; integrative technology of primary processing; response surface methodology; entropy weight method; multiple indexes; astragaloside IV; calycosin-7-glucoside; ononin; calycosin; total flavonoids; total polysaccharides; water-soluble extracts

收稿日期: 2021-04-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82160750); 国家自然科学基金资助项目(81960713); 甘肃省教育厅产业支撑计划项目(2021CYZC-21); 甘肃省自然科学基金创新基地和人才计划项目(18JR3RA197); 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室开放基金(ZYZL18-008); 甘肃省中药制药工艺工程研究中心开放课题(ZYGY202003); 甘肃中医药大学研究生创新基金资助项目(2021CX41)

作者简介: 吴红伟(1995—), 男, 汉族, 硕士研究生, 研究方向为主要从事中药及复方加工炮制机理及活性成分研究。

Tel: 13519317036 E-mail: 2419161734@qq.com

*通信作者: 李越峰(1976—), 女, 汉族, 教授, 博士生导师, 研究方向为从事中药及复方加工炮制机理及活性成分研究。

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根。具有补气升阳、固表止汗、利水消肿、生津养血、行滞通痹、托毒排脓、敛疮生肌^[1]等功效。现代研究表明,黄芪具有增强机体免疫力^[2]、抗氧化^[3]、保护肝肾^[4]、利尿^[5]及抗肿瘤^[6]等药理作用。黄芪药材产地加工过程包括净制、揉搓、干燥、闷润、切制、干燥等多个工艺环节,加工过程较为繁琐;同时,黄芪药材产地加工多以传统经验为主,主观性强,导致黄芪饮片质量不易控制^[7]。此外,“发汗”也是中药材产地加工的一种重要方法,现代研究表明,部分药材经过发汗处理之后会对药物的外观性状、化学成分以及药理作用都会产生一定的影响^[8-9],黄芪药材在产地加工过程中发汗与否观点不一。

因此,本实验在查阅相关文献的基础上^[10-11],通过前期预试验研究,结果发现发汗过程会对黄芪质量产生影响,故将发汗过程纳入黄芪产地加工一体化工艺中进行考察。基于此,本研究在传统加工方式基础上对其加以改进,其过程包括净制、发汗、揉搓、切制、干燥。与传统加工方法相比,该工艺能够减少传统加工炮制工艺中新鲜药材的干燥过程及干燥后经水浸润再切片的浸泡环节,降低从药材到饮片的加工成本及药材耗损;以黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、总黄酮、总多糖、水溶性浸出物的综合评分为指标,运用 Box-Behnken 响应面设计方法,将黄芪产地加工与饮片炮制相结合,优选出黄芪产地加工炮制一体化的最佳工艺,为简化加工工艺及提高黄芪饮片质量提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

1260 系列高效液相色谱仪、ELSD 蒸发光散射检测器,美国 Agilent 公司; HH-S28s 数显恒温水浴锅,金坛市大地自动化仪器厂; OSB-2209 型旋转蒸发仪,上海爱朗仪器有限公司; L2-5K 型离心机,湖南可成仪器设备有限公司; HX502T 型电子分析天平,慈溪市天东衡器厂; KQ-500DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司; UV-power 型紫外分光光度计,北京莱伯泰科仪器股份有限公司; 766-6 型远红外辐射干燥箱,上海锦屏仪器仪表有限公司通州分公司。

1.2 试药

黄芪药材采自甘肃岷县秦许乡,经甘肃中医药大学中药鉴定教研室王明伟副教授鉴定为蒙古黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao,将黄芪药材按不同产地加工方式处理,干燥、粉碎后过四号筛,置于干燥器中备用。

对照品黄芪甲苷(批号 PS010428,质量分数 $\geq 98\%$)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 PS000687,质量分数 $\geq 98\%$)、芒柄花苷(批号 PS000674,质量分数 $\geq 98\%$)、毛蕊异黄酮(批号 PS010251,质量分数 $\geq 98\%$)、D-葡萄糖(批号 PS020418,质量分数 $> 98\%$)均购自成都普思生物科技有限公司;甲醇(色谱纯,批号 20200302)、甲酸(色谱纯,批号 20171201)、正丁醇(分析纯,批号 20190801)、氨水(分析纯,批号 20200706),均购自天津市大茂化学试剂厂;水为娃哈哈纯水。

2 方法与结果

2.1 不同加工方式处理制备黄芪饮片

不同含水量是指将新鲜黄芪药材晾晒至一定含水量 55%、50%、45%,然后进行后续发汗和揉搓处理;发汗是指将一定含水量的黄芪药材进行发汗处理,发汗时长为 1、2、3 d,黄芪发汗方法采用“普通发汗法”,即将失水黄芪药材进行堆置处理,促其发热,使黄芪药材内部水分向外扩散^[7],发汗处理完成后摊开晾 1 夜,然后进行揉搓处理。揉搓是指将一定含水量的黄芪药材经过发汗处理后,进行揉搓处理,切制得到饮片,揉搓次数为 1、2、3 次。干燥是指将经切制后的黄芪饮片利用远红外辐射干燥箱在不同温度(45、50、55 °C)下进行干燥。

2.2 高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法测定黄芪甲苷

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 HC-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以乙腈-水(40:60)为流动相;柱温 30 °C;体积流量 1 mL/min;进样体积 10 μL;蒸发光检测器:漂移管温 40 °C;载气体积流量 1.5 mL/min。黄芪甲苷对照品及黄芪样品 HPLC 色谱图见图 1。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇超声使其完全溶解,制成质量浓度为 2.5 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备^[12] 取各样品粉末约 4 g,精密称定,加甲醇 40 mL,回流提取 1 h,抽滤,重复以上操作 2 次,合并滤液;减压浓缩后加 10 mL

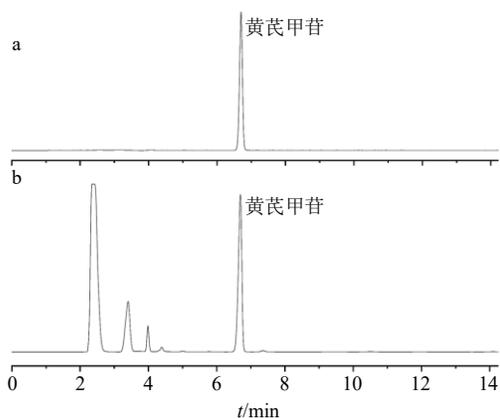


图 1 黄芪甲苷对照品 (a) 和黄芪样品 (b) 的 HPLC-ELSD 图

Fig. 1 HPLC-ELSD of astragaloside IV reference substance (a) and *Astragali Radix* sample (b)

水溶解, 加 40 mL 水饱和的正丁醇萃取, 重复操作 2 次, 合并萃取液并加入 40 mL 氨试液萃取, 重复操作 2 次; 将萃取液转移至圆底烧瓶中, 减压浓缩, 加甲醇定容至 5 mL 量瓶中, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 备用。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取黄芪甲苷对照品储备液 0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.9 mL, 至 2 mL 量瓶中并用色谱甲醇定容至刻度。每个不同质量浓度的对照品溶液按“2.2.1”项下色谱条件进样 10 μL 测定峰面积, 对不同质量浓度的对照品溶液和峰面积求自然对数, 以进样量的对数对峰积对数进行线性回归, 绘制标准曲线, 求得线性方程为 $Y=1.6807X+2.1661$, $R^2=0.9995$, 表明黄芪甲苷在 3.771~11.313 μg 线性范围良好。

2.2.5 方法学考察 按照《中国药典》2020 年版^[1] 方法对实验稳定性、重复性、精密度、加样回收率进行考察, 其 RSD 值均分别为 1.77%、1.35%、1.68%、1.17%, 平均加样回收率为 97.00%。

2.3 高效液相色谱-二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 法测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 HC-C₁₈ 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 检测波长 260 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 1 mL/min; 进样体积 5 μL ; 流动相为乙腈-0.2%甲酸水溶液, 梯度洗脱程序: 0~20 min, 20%~40%乙腈; 20~30 min, 40%乙腈。混合对照品及黄芪样品 HPLC 色谱图见图 2。

2.3.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷对照品

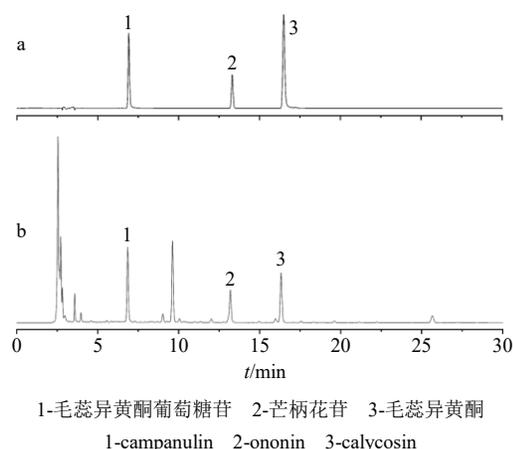


图 2 混合对照品 (a) 和黄芪样品 (b) 的 HPLC-DAD 图
Fig. 2 HPLC-DAD of mixed reference substances (a) and *Astragali Radix* sample (b)

10.11、4.98、3.30 mg, 分别溶解于至 10、5、10 mL 量瓶中并用色谱甲醇定容至刻度, 制成质量浓度分别为 1.011、0.996、0.330 mg/mL 的对照品溶液。分别吸取上述对照品溶液 0.08、0.07、0.15 mL 至 10 mL 量瓶中并用色谱甲醇定容至刻度, 摇匀, 制成混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取黄芪样品粉末约 2 g, 精密称定, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 40 mL, 加热回流 1 h, 抽滤, 滤渣加 40 mL 甲醇回流提取 1 h, 合并 2 次所得滤液, 于旋转蒸发器减压浓缩并用色谱甲醇定容至 5 mL, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 备用。

2.3.4 线性关系考察 分别取“2.3.2”项下的各对照品溶液, 体积为 0.05、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL 的毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品溶液于 2 mL 量瓶中并用色谱纯甲醇定容至刻度; 体积为 0.03、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mL 的毛蕊异黄酮对照品溶液于 2 mL 量瓶中并用色谱纯甲醇定容至刻度; 体积为 0.1、0.3、0.7、0.9、1.3、1.7 mL 的芒柄花苷对照品溶液于 2 mL 量瓶中并用色谱纯甲醇定容至刻度。按照“2.3.1”项下的色谱条件进行检测, 进样量 5 μL 。以峰面积为纵坐标 (Y), 进样量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 计算回归方程结果分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷 $Y=19079X-26.369$, $R^2=0.9997$, 线性范围 25.28~303.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 毛蕊异黄酮 $Y=26723X-38.364$, $R^2=0.9997$, 线性范围 14.94~149.40 mg/mL; 芒柄花苷 $Y=14485X-12.39$, $R^2=0.9998$, 线性范围 16.50~280.50 mg/mL; 结果表明, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒

柄花苷在相应浓度间线性关系良好。

2.3.5 方法学考察 按照《中国药典》2020年版^[1]方法对实验进行方法学考察,得到毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷的稳定性的RSD值在0.97%~1.13%,重复性的RSD值在1.15%~2.38%,精密度的RSD值在0.97%~2.16%,平均加样回收率分别为98.0%、97.0%、97.0%,RSD分别为0.79%、1.89%、1.15%。

2.4 总多糖含量测定^[13]

2.4.1 对照品溶液的制备 精密称取D-无水葡萄糖对照品0.042 g,加纯水定容至100 mL,摇匀,制得含D-无水葡萄糖0.42 mg/mL的对照品溶液。

分别取3、4、5、6、7、8 mL上述对照品溶液定容至50 mL,得到不同质量浓度的对照品溶液,待测。

2.4.2 供试品溶液的制备 取各样品粉末约1 g,精密称定,置圆底烧瓶中,加水100 mL回流提取1 h,离心,取沉淀重复上述操作1次,合并上清液,浓缩至适量,转移至100 mL量瓶中,加水至刻度,摇匀。精密量取5 mL,加乙醇26 mL,涡旋使混匀,离心,取沉淀加水溶解并置于250 mL量瓶中,稀释至刻度,摇匀,待测。

2.4.3 显色及测定 取不同质量浓度对照品溶液及供试品溶液各2 mL置于具塞试管中,加入5%苯酚溶液1 mL,充分混匀,再加入5 mL浓硫酸,混匀,于40 °C水浴锅加热15 min后取出,冷却,采用紫外分光光度计于490 nm测定吸光度值。

2.4.4 线性关系考察 精密吸取“2.4.1”项下不同浓度的葡萄糖对照品溶液各2 mL置于具塞试管中,加入5%苯酚溶液1 mL,充分混匀,再加入5 mL浓硫酸,混匀,于40 °C水浴锅加热15 min后取出,水浴冷却,采用紫外分光光度计于490 nm处测定吸光度值。以质量浓度为横坐标(X),吸光度值为纵坐标(Y),绘制D-无水葡萄糖标准曲线,进行线性回归,得回归方程 $Y=0.0148X-0.0459$, $R^2=0.9995$,结果表明,D-无水葡萄糖在25.2~67.2 μg/mL与吸光度呈良好的线性关系。

2.4.5 方法学考察 按照《中国药典》2020年版^[1]方法对实验稳定性、重复性、精密度、加样回收率进行考察,RSD分别为2.93%、2.63%、0.94%、1.60%,平均加样回收率为95.90%。

2.5 总黄酮含量测定

2.5.1 对照品溶液的制备 精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷2.50 mg,加70%乙醇定容至100 mL量瓶

中,制成含0.025 mg/mL毛蕊异黄酮葡萄糖苷的对照品溶液;分别吸取上述对照品溶液1、2、3、4、5 mL至10 mL量瓶中并定容至刻度,采用紫外分光光度计于260 nm下测定吸光度值。

2.5.2 供试品溶液的制备 取黄芪粉末约0.3 g,精密称定,置于锥形瓶中,加70%乙醇50 mL,称定总质量后超声提取(500 W、50 Hz)30 min,称定质量,用70%乙醇补足减失质量,抽滤,取续滤液2 mL定容至10 mL量瓶中,于260 nm下测定吸光度值。

2.5.3 线性关系考察 精密吸取“2.5.1”项下不同浓度的对照品溶液,采用紫外分光光度计于260 nm测定吸光度值。以质量浓度为横坐标(X),吸光度为纵坐标(Y),绘制毛蕊异黄酮葡萄糖苷标准曲线,进行线性回归,得回归方程 $Y=0.0513X+0.0313$, $R^2=0.9998$,结果表明,毛蕊异黄酮葡萄糖苷在2.5~15.0 μg/mL与吸光度呈良好的线性关系。

2.5.4 方法学考察 按照《中国药典》2020年版^[1]方法对实验稳定性、重复性、精密度、加样回收率进行考察,RSD分别为2.84%、0.95%、0.12%、0.73%,平均加样回收率为98.1%。

2.6 浸出物含量测定

依据《中国药典》2020年版第四部水溶性浸出物测定法(通则2201)项下冷浸法测定^[1]。

2.7 综合评分计算^[14-15]

熵权法是一种根据多项指标所提供的信息来确定各指标权重的客观赋权法。信息熵作为体系混乱程度的度量,指标熵值越小,则它所蕴涵的信息量越大,在综合评价中所起作用也越大,其权重也越高,具体计算方法如下。

①利用公式(1)进行数据归一化处理。

$$X_{ij}'=(X_{ij}-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min}) \quad (1)$$

②采用公式(2)、(3)定义熵(E_j)。

$$P_{ij}=X_{ij}'/\sum_{i=1}^m X_{ij}' \quad (2)$$

$$E_j=-k\sum_{i=1}^m P_{ij}\ln P_{ij} \quad (3)$$

③利用公式(4)计算指标权重(w_j)。

$$w_j=(1-E_j)/\sum_{i=1}^n (1-E_j) \quad (4)$$

本课题组在前期预试验中,应用熵权法计算得到黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、总黄酮、总多糖、水溶性浸出物的权重

值分别为 0.157、0.138、0.234、0.117、0.163、0.121、0.069。综合评分 (Y) = 黄芪甲苷 × 0.157 + 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 × 0.138 + 毛蕊异黄酮 × 0.234 + 芒柄花苷 × 0.117 + 总黄酮 × 0.163 + 总多糖 × 0.121 + 水溶性浸出物 × 0.069, 计算不同试验组别各指标成分综合评分。

2.8 产地加工炮制一体化工艺优选

2.8.1 模型的建立及显著性检验^[16-17] 本课题组在前期预试验中, 发现含水量 (X₁)、发汗时长 (X₂)、揉搓次数 (X₃)、干燥温度 (X₄) 对黄芪产地加工炮

制一体化工艺综合评分影响显著, 故本实验以 X₁、X₂、X₃、X₄ 为考察因素, 采用 Design Expert 8.0.6 软件设计 4 因素 3 水平 Box-Behnken 试验方案。以黄芪甲苷 (Y₁)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (Y₂)、芒柄花苷 (Y₃)、毛蕊异黄酮 (Y₄)、总黄酮 (Y₅)、总多糖 (Y₆)、水溶性浸出物 (Y₇) 的综合评分为因变量, 采用熵权法综合评分法优选黄芪产地加工炮制一体化工艺, 计算综合评分 (Y)。Y = Y₁w₁ + Y₂w₂ + ... + Y₇w₇。试验因素水平、试验方案与结果见表 1。

将各组综合评分数据采用 Design Expert 8.0.6

表 1 Box-Behnken 试验因素与水平和结果与分析

Table 1 Factors and levels and results and analysis of Box-Behnken experiments

试验号	X ₁ /%	X ₂ /d	X ₃ /次	X ₄ /°C	质量分数/(mg·g ⁻¹)						Y ₇ /%	Y
					Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆		
1	50 (0)	3 (+1)	2 (0)	45 (-1)	0.804 9	0.320 5	0.360 3	0.442 8	5.920 9	160.308 7	35.880 0	23.173
2	50 (0)	2 (0)	2 (0)	50 (0)	0.802 0	0.318 8	0.366 8	0.377 3	6.909 7	108.716 2	42.967 9	17.566
3	50 (0)	2 (0)	2 (0)	50 (0)	0.818 0	0.307 0	0.316 9	0.343 8	6.551 4	169.864 9	38.372 1	24.584
4	50 (0)	2 (0)	2 (0)	50 (0)	0.806 0	0.295 9	0.273 1	0.283 7	5.772 4	175.405 4	37.480 2	25.046
5	55 (+1)	2 (0)	2 (0)	45 (-1)	0.807 8	0.389 3	0.415 7	0.459 8	7.168 8	139.494 6	39.308 2	21.117
6	45 (-1)	2 (0)	2 (0)	45 (-1)	0.805 5	0.206 8	0.215 1	0.253 4	5.741 1	144.007 9	28.705 2	20.602
7	55 (+1)	1 (-1)	2 (0)	50 (0)	0.996 4	0.293 7	0.288 1	0.311 6	5.567 4	114.256 8	42.780 2	18.006
8	55 (+1)	2 (0)	2 (0)	55 (+1)	0.807 7	0.293 0	0.273 4	0.282 7	5.546 6	167.871 6	36.322 5	24.016
9	50 (0)	1 (-1)	2 (0)	55 (+1)	0.810 3	0.282 7	0.258 7	0.274 4	5.796 5	159.425 7	31.587 0	22.702
10	50 (0)	2 (0)	2 (0)	50 (0)	0.804 7	0.255 0	0.247 3	0.293 5	6.117 7	158.783 8	33.406 0	22.797
11	50 (0)	2 (0)	2 (0)	50 (0)	0.814 0	0.282 6	0.252 9	0.268 8	5.762 1	165.574 3	35.647 3	23.720
12	55 (+1)	2 (0)	1 (-1)	50 (0)	0.800 7	0.364 3	0.384 7	0.384 8	7.407 3	113.378 4	40.556 7	18.057
13	50 (0)	1 (-1)	3 (+1)	50 (0)	0.807 9	0.228 7	0.224 7	0.237 9	4.567 3	180.439 2	33.869 0	25.184
14	50 (0)	3 (+1)	2 (0)	55 (+1)	0.807 9	0.232 5	0.293 9	0.253 5	6.094 8	145.240 3	36.894 8	21.396
15	55 (+1)	3 (+1)	2 (0)	50 (0)	0.819 8	0.320 7	0.361 8	0.319 2	7.385 9	129.020 3	41.505 7	19.998
16	50 (0)	1 (-1)	1 (-1)	50 (0)	0.812 6	0.405 2	0.384 0	0.455 3	7.412 2	156.081 1	40.071 3	23.214
17	50 (0)	2 (0)	3 (+1)	55 (+1)	0.806 2	0.290 6	0.263 0	0.283 5	7.273 9	153.885 1	37.221 9	22.663
18	50 (0)	3 (+1)	3 (+1)	50 (0)	0.809 3	0.299 7	0.336 9	0.345 5	6.168 4	131.192 8	44.165 9	20.238
19	45 (-1)	1 (-1)	2 (0)	50 (0)	0.837 6	0.231 3	0.288 8	0.236 9	5.414 2	179.596 2	35.683 3	25.366
20	50 (0)	2 (0)	3 (+1)	45 (-1)	0.810 7	0.215 8	0.223 4	0.232 3	6.438 7	179.391 9	35.643 7	25.483
21	50 (0)	3 (+1)	1 (-1)	50 (0)	0.800 6	0.332 5	0.298 7	0.295 7	4.540 3	97.533 8	38.166 1	15.469
22	45 (-1)	2 (0)	2 (0)	55 (+1)	0.819 7	0.225 2	0.261 4	0.261 6	5.658 6	168.952 7	37.119 5	24.208
23	45 (-1)	2 (0)	3 (+1)	50 (0)	0.803 8	0.269 9	0.281 1	0.274 7	5.670 3	173.344 6	37.959 5	24.810
24	45 (-1)	2 (0)	1 (-1)	50 (0)	0.919 3	0.232 8	0.230 9	0.247 4	5.021 5	143.403 2	32.865 0	20.723
25	55 (+1)	2 (0)	3 (+1)	50 (0)	0.802 5	0.305 6	0.333 4	0.341 2	4.512 4	122.853 8	42.896 4	18.868
26	50 (0)	2 (0)	1 (-1)	45 (-1)	0.818 7	0.311 9	0.297 1	0.253 1	6.689 1	142.094 6	37.499 4	21.167
27	45 (-1)	3 (+1)	2 (0)	50 (0)	0.883 1	0.320 1	0.367 0	0.323 4	6.245 2	184.864 9	38.880 3	26.408
28	50 (0)	2 (0)	1 (-1)	55 (+1)	0.926 2	0.277 7	0.254 3	0.259 2	6.745 1	121.925 7	39.771 3	18.893
29	50 (0)	1 (-1)	2 (0)	45 (-1)	0.809 5	0.234 1	0.245 3	0.280 9	5.722 3	148.716 2	38.344 5	21.849

软件进行多元回归和二项式分析，建立综合评分对4个因素的二次回归模型方程： $Y=25.50-0.87X_1+0.61X_2-0.30X_3+1.71X_4+0.75X_1X_2-1.70X_1X_3+$

$0.34X_1X_4+0.20X_2X_3-0.22X_2X_4+0.03X_3X_4-2.53X_1^2-0.39X_2^2-1.16X_3^2-4.43X_4^2$ 对回归模型进行方差分析，结果见表2。

表2 响应面试验结果方差分析

Table 2 Variance analysis of response surface experiments results

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性	来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	214.774	14	15.341	50.574	<0.000 1	极显著	X_3X_4	0.003	1	0.003	0.009	0.926 6	不显著
X_1	9.078	1	9.078	29.926	<0.000 1	极显著	X_1^2	41.449	1	41.449	136.641	<0.000 1	极显著
X_2	4.528	1	4.528	14.928	0.001 7	显著	X_2^2	0.973	1	0.973	3.208	0.094 9	不显著
X_3	1.096	1	1.096	3.612	0.078 2	不显著	X_3^2	8.712	1	8.712	28.719	<0.000 1	极显著
X_4	34.958	1	34.958	115.245	<0.000 1	极显著	X_4^2	127.565	1	127.565	420.533	<0.000 1	极显著
X_1X_2	2.246	1	2.246	7.406	0.016 5	显著	残差	4.247	14	0.303			
X_1X_3	11.532	1	11.532	38.017	<0.000 1	极显著	失拟项	3.098	10	0.310	1.079	0.477 0	不显著
X_1X_4	0.476	1	0.476	1.568	0.231 0	不显著	误差	1.149	4	0.287			
X_2X_3	0.164	1	0.164	0.540	0.474 6	不显著	总离差	219.021	28				
X_2X_4	0.202	1	0.202	0.664	0.428 7	不显著							

模型 $F=50.57, P<0.000 1$ ，失拟项 $P>0.05$ 不显著，表明该模型具有较高的可靠性；此外，该模型调整决定系数 $R^2_{adj}=0.961 2$ ，表明黄芪产地加工炮制一体化工艺熵权综合评分 96.12%来源于含水量、发汗时长、揉搓次数及干燥温度；同时，此模型信噪比=24.953>4，也进一步表该模型具有一定可靠性。经 F 检验法分析， P 值越小，则相应变量显著性程度越高，本实验中1次项 $X_1、X_2、X_4$ ，二次项 $X_1^2、X_3^2、X_4^2$ ，含水量和揉搓次数的交互项 (X_1X_3)对黄芪产地加工炮制一体化工艺影响极显著 ($P<0.01$)，含水量和发汗时长的交互项 (X_1X_2)对黄芪产地加工炮制一体化工艺影响显著 ($P<0.05$)，其他影响不显著。

因此，各因素与黄芪产地加工炮制一体化工艺熵权综合评分之间并非简单的线性关系，各因素之间存在显著的交互作用，因此，采用简单的分析方法难准确分析，而响应面法能够直观地了解各因素及相互之间的关系，并能较好地优化黄芪产地加工炮制一体化工艺。

2.8.2 响应面交互作用分析与优化^[18-19] 根据回归方程所绘制出各因素交互作用的响应面图，等高线图是其投影图，等高线图的形状能够反映交互作用的强弱，其中，椭圆表示2因素交互作用较强，而圆形则表示交互作用较弱；同时，响应面的陡峭程度能够反映出交互作用的强弱。在图3-A、B中，等高线图趋向椭圆，说明含水量与发汗时长和揉搓

次数间的交互作用明显，而其他各因素等高线图未趋向椭圆，说明其余各因素之间交互作用不明显。此外，通过对比图中响应面图曲面坡度可知实验中各因素对黄芪产地炮制加工一体化工艺综合评分的影响大小顺序为 $X_4>X_1>X_2>X_3$ 。应用软件预测最佳加工工艺为含水量 49.76%、发汗时长 2.69 d、揉搓次数 1.97 次、干燥温度 50.87 °C，综合评分为 25.882 分。

2.9 模型验证试验

为便于实际操作将最佳加工工艺参数调整为含水量 50%、发汗时长 3 d、揉搓次数 2 次、干燥温度 51 °C，据此条件进行 3 次验证试验，结果见表 3，平均综合评分为 25.176，与模型预测值 25.882 的偏差为 2.727%，说明该优化加工工艺稳定、重复性好、可操作性强。

2.10 趁鲜切制工艺与传统工艺比较

为进一步对比本实验优化所得工艺与传统工艺，故将传统加工饮片与趁鲜切制饮片进行含量测定。通过综合评分后，本实验优化所得黄芪药材趁鲜切制加工工艺得分 25.18，传统加工工艺所得黄芪饮片综合得分 19.59 分。结果表明本实验优化所得工艺与传统相比，趁鲜切制综合评分高于传统组，可见黄芪趁鲜切制饮片能有效避免化学成分的损失，保证饮片质量。

3 讨论

黄芪药材产地加工在其品质形成过程中发挥重

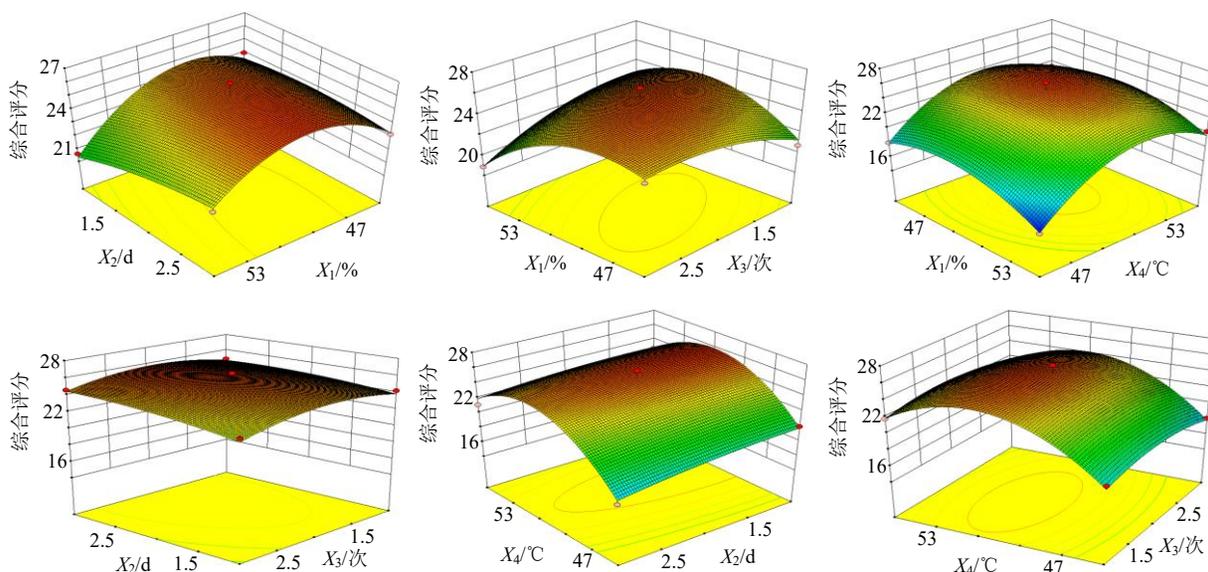


图3 各因素交互作用对黄芪产地炮制加工一体化工艺综合评分的响应面和等高线

Fig. 3 Response surface and contour line of comprehensive score of integrated processing technology of *Astragali Radix* from different factors interaction

表3 Box-Behnken 响应面优化法的验证 (n = 3)

Table 3 Validation of the Box-Behnken response surface optimization method (n = 3)

批次	质量分数/(mg·g ⁻¹)						Y ₇ /%	Y
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆		
1	0.896	0.313	0.407	0.309	6.609	174.176	41.352	25.321
2	0.888	0.321	0.391	0.317	6.927	171.376	39.626	24.912
3	0.895	0.310	0.404	0.310	6.546	173.588	42.181	25.296
平均值	0.893	0.315	0.401	0.312	6.694	173.046	41.053	25.176
RSD/%	0.521	1.797	2.091	1.446	3.056	0.853	3.175	0.910

要作用，就目前有关黄芪药材产地加工过程而言，其生产者和经营者对其常用加工方法参差不齐，从而导致黄芪饮片及其相关制剂质不一。其次，黄芪药材在产地加工过程中多以大小、断面、颜色及气味等为指标对其质量进行评价，但以上指标多易受主观因素影响。因此，将其作为主要指标对黄芪产地加工工艺优选及质量评价具有一定缺陷。

中药化学成分复杂，通过检测其中某一种活性成分均不能全面反映其质量及整体疗效^[20]，《中国药典》2020年版以黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷为指标评价黄芪饮片质量，对黄芪饮片质量控制具有重要意义，但黄芪除含有黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷外，还含有黄芪多糖、毛蕊异黄酮等多种成分，这些成分在增强免疫、抗肿瘤、抗氧化过程中发挥重要作用。因此，单以黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷为指标来评价黄芪药材质量并不全面。而本研究在《中国药典》2020年版规定的指标性成分

基础上，将黄芪总多糖、总黄酮、毛蕊异黄酮、芒柄花苷纳入考察指标，利用响应面法结合熵权法对黄芪产地加工与炮制一体化工艺进行优化，利用数学模型对黄芪质量进行综合评价，排除了主观赋权所带来的误差，使得评价更为科学合理。

本实验在前期单因素实验中，确定了影响黄芪药材产地加工炮制一体化工艺因素的中心点，其中黄芪药材含水量为50%，发汗时长为2d，揉搓次数为2次，干燥温度为50℃。在此基础上，通过Design Expert 8.0.6软件分析，得到拟合度好，极显著的多项二次回归模型。通过分析方差和响应面结果，表明所优选工艺方法可靠、准确性好。最终得到黄芪药材产地加工一体化最佳工艺为含水量为50%，发汗时长3d，揉搓次数2次，干燥温度为51℃，其过程在最大程度上对黄芪药材产地加工工艺进行简化，与传统加工方式相比较，此过程省去药材干燥及闷润过程，省时省力，降低黄芪药材在闷润及二

次干燥过程中有效成分的流失,提高了黄芪饮片质量;同时,此工艺减少黄芪药材中间贮藏环节,避免在贮藏过程中发生虫蛀、霉变等问题的出现。

为验证工艺的可靠性,本实验按最佳加工工艺做3组重复试验,其结果与模型预测值的偏差为2.727%,证明了本实验优化所得黄芪药材产地加工与炮制一体化工艺的可靠性。同时,本实验将优化所得最佳加工工艺与传统加工工艺进行对比,结果表明趁鲜切制加工工艺所得黄芪饮片质量要高于传统加工工艺所得黄芪饮片质量,进一步证明了该工艺较传统加工方式具有一定优势。

本研究优选的黄芪产地加工炮制一体化工艺简单、可靠,对黄芪药材产地加工炮制一体化具有一定指导意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 315.
- [2] 牛江涛,曹瑞,司昕蕾,等. 红芪与黄芪免疫调节和抗氧化作用对比研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(4): 21-23.
- [3] 薛志远. 红芪和黄芪抗骨质疏松、抗氧化及抗肝损伤作用比较研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2018.
- [4] 刘晔,车念聪,杜宇琼,等. 芪水煎对糖尿病肾病小鼠肝、肾组织细胞外基质调节因子表达的影响 [J]. 环球中医药, 2017, 10(10): 1170-1174.
- [5] 高丽,白赟,冯学斌,等. 黄芪及其药对对气虚盐水负荷模型大鼠利尿作用的影响 [J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(10): 1344-1347.
- [6] 曲晓宇,翟婧卉,高欢,等. OCT2/MRP2 在黄芪甲苷联合顺铂的减毒增效作用中的机制研究 [J]. 药学学报, 1-15. doi: 10.16438/j.0513-4870.2021-0074.
- [7] 杨俊杰,李林,季德,等. 中药材产地加工与炮制一体化的历史沿革与现代研究探讨 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2751-2757.
- [8] 杨莹,康显杰,杜伟锋,等. 续断“发汗”前后 HPLC 指纹图谱与细胞增殖分化药效的谱效关系研究 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3909-3916.
- [9] 徐力,王胜男,华愉教,等. 不同发汗方法玄参中核苷类成分的 UPLC-QTRAP-MS/MS 分析 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(6): 2750-2753.
- [10] 陈茹,陈成,杨兴鑫,等. 中药“发汗”炮制法的现代研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 489-493.
- [11] 段金彪,宿树兰,严辉,等. 药材初加工“发汗”过程及其酶促反应与化学转化机制探讨 [J]. 中草药, 2013, 44(10): 1219-1225.
- [12] 张淑娟,张育贵,李东辉,等. 基于网络药理学及指纹图谱的黄芪质量标志物预测 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11): 2691-2698.
- [13] 杜国军. 恒山黄芪道地药材质量标准研究 [D]. 太原: 山西大学, 2013.
- [14] 王智群,于亚田,冯建安,等. G1-熵权法结合 Box-Behnken 响应面法优化黄芪胶囊的醇提工艺 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(5): 1110-1113.
- [15] 崔曰新,张景珍,王思雨,等. 基于熵权法和灰色关联度法的羌活饮片质量评价研究 [J]. 中草药, 2019, 50(23): 5724-5730.
- [16] 王伶俐,应泽茜,孙贝贝,等. 基于 Box-Behnken 设计-响应面法优化蜜麦麸的制备工艺 [J]. 中草药, 2021, 52(12): 3538-3543.
- [17] Boateng I D, Yang X M, Li Y Y. Optimization of infrared-drying parameters for *Ginkgo biloba* L. seed and evaluation of product quality and bioactivity [J]. *Ind Crop Prod*, 2021, 160: 113108.
- [18] 欧阳健,金家宏,王洪伦. 响应面法优化纤维素酶协同提取沙棘籽粕原花青素的工艺研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(9): 1589-1594.
- [19] 杨志城,孙彩虹,鄂秀辉,等. 基于响应面及加权评分的黄芪蜜炙工艺优化 [J]. 中草药, 2021, 52(8): 2247-2256.
- [20] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.

[责任编辑 郑礼胜]