

• 药剂与工艺 •

基于 Box-Behnken 设计-响应面法和电子眼的栀子姜炙工艺研究

范星晨, 祁玉芳, 张科卫*, 汪思晨, 戴桂钰, 陆兔林*, 毛春芹

南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 对栀子姜炙过程中的外观性状、含量变化进行客观量化, 以此优选出姜栀子的最佳炮制工艺。方法 建立 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 考察炒制火力、炒制时间、姜汁用量 3 因素对姜炙过程的影响; 采用 CM-5 型分光测色计 (电子眼) 从外在角度测定栀子姜炙后的颜色变化 (同时辅以姜炙后的气味变化综合得分); 选取栀子苷与西红花苷 I 2 个指标性成分的含量作为内在指标, 结合醇溶性浸出物的含量变化进行组合加权评分, 以评分作为响应值, 在此基础上优选出姜栀子的最佳炮制工艺并用试验进行验证。结果 姜栀子的最佳炮制工艺为炒制功率 400 W、炒制时间 4.5 min、姜汁用量 10%。最佳工艺的颜色范围为 L^* : 44.600~45.500, a^* : 21.800~22.700, b^* : 23.500~23.700, E_{ab}^* : 55.300~56.600。含量测定结果表明, 栀子饮片经姜炙后京尼平龙胆双糖苷、栀子苷的含量均有上升, 西红花苷 I、II 的含量显著降低。结论 成功优化了姜栀子的炮制工艺参数, 以仿生技术对栀子姜炙过程中的色泽变化进行研究, 为基于外观性状研究中药饮片炮制工艺提供了参考。

关键词: 栀子; 姜炙; 电子眼; Box-Behnken 设计-响应面法; 京尼平龙胆双糖苷; 栀子苷; 西红花苷; 色度

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)07-2175-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.07.005

Study on processing technology of *Gardeniae Fructus* processed with ginger juice based on Box-Behnken design-response surface methodology and electronic eye

FAN Xingchen, QI Yufang, ZHANG Kewei, WANG Sichen, DAI Guiyu, LU Tulin, MAO Chunqin

School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: **Objective** The changes of appearance character and contents of some substances in Zhizi (*Gardeniae Fructus*, GF) during processing with ginger juice were objectively quantified to optimize the processing technology of GF. **Methods** Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM) was established to investigate the effects of processing firepower, frying time and the amount of ginger juice on the processing. The color changes of GF after processing with ginger juice were determined by CM-5 spectrophotometer (electronic eye), combined with the comprehensive score of the odor changes and selected as the external angle. The changes of contents of geniposide and crocin I were selected as the internal index, combined with the change of alcohol-soluble extract, and the score was taken as the response value. On this basis, the best processing technology was selected and verified. **Results** The best processing technology was 400 W of processing frying power, 4.5 min of frying time, 10% ginger juice, color value range of the best processing technology was L^* : 44.600—45.500, a^* : 21.800—22.700, b^* : 23.500—23.700, E_{ab}^* : 55.300—56.600. The results showed that the contents of geniposide and genipin-1- β -D-gentiobioside increased, while the contents of crocin I and crocin II decreased significantly after being processed with ginger juice. **Conclusion** In this experiment, the external and internal quantitative standard of the processing technology of GF processed with ginger juice were successfully optimized, and the color changes during processing with ginger juice were studied by bionic technology, which would provide a reference for the research of traditional Chinese medicine processing based on appearance characters.

收稿日期: 2023-08-16

基金项目: 国家重点研发专项中药饮片质量识别关键技术研究 (2018YFC1707000)

作者简介: 范星晨 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: Fanxc0210@126.com

*通信作者: 张科卫, 博士, 副教授, 主要从事中药炮制研究。E-mail: kewei@njucm.edu.cn

陆兔林, 教授, 博士生导师, 主要从事中药炮制及中药饮片质量标准研究。E-mail: ltl2021@njucm.edu.cn

Key words: *Gardeniae Fructus*; processed with ginger juice; electronic eye; Box-Behnken design-response surface methodology; genipin-1- β -D-gentiobioside; geniposide; crocin; chrominance

栀子 *Gardeniae Fructus* 为茜草科栀子属植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实, 是中国传统的药食同源品种之一^[1-2]。其性寒, 味苦, 具有泻火除烦、凉血解毒、消肿止痛、清热利湿的功效。现代研究表明, 栀子中所含的栀子苷、西红花苷等成分具有保肝利胆、抗炎、抗抑郁等作用^[3-7]。

有关栀子的炮制最早见于东汉, 称为“擘”, 即敲击栀子使其裂开^[8]。到了宋代, 《产宝杂录》首载“姜汁炒焦黄”^[9]。姜栀子的炮制方法自此不断改良和完善, 姜汁炙法也一直沿用至今。《中国药典》2020 年版收载的越鞠保和丸、黄连上清颗粒、导赤丸等 14 种成方制剂均以姜栀子组方配伍入药, 但历版《中国药典》栀子项下均未收录姜栀子这一饮片。查阅国家及各省市的炮制规范发现, 北京、天津、山西、河南、福建、山东、重庆等省市均收录了姜栀子饮片及其炮制方法, 但是不同地区姜栀子的炮制方法有所不同, 且均缺少细化统一的炮制工艺参数。故有必要对姜栀子的炮制工艺参数进行细化, 以使其质量稳定可控, 从而保证临床用药安全有效。

本研究采用 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 考察姜栀子炮制工艺, 以外观性状与内在指标性成分的含量相结合, 以此细化姜栀子炮制工艺参数, 为中药饮片炮制工艺的规范化研究提供一定的参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; MS-105D 型 1/10 万电子分析天平, 瑞士梅特勒-托利多集团; CM-5 型分光测色仪, 日本柯尼卡美能达有限公司; KQ-500E 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; H1650-W 型台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; FA1104N 型电子天平, 上海精密科学仪器有限公司; 美的 C21-RT2170 型匀火电磁炉, 广东美的生活电器制造有限公司; JYL-C93T 型榨汁搅拌机, 九阳股份有限公司; BO-400Y 型多功能粉碎机, 中国永康铂政五金厂; H1650-W 型台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; Milli-Q Integral 3 型超纯水器, 南京汉隆实验器材有限公司。

1.2 试剂与药品

对照品栀子苷 (批号 21092708, 质量分数 99.11%)、西红花苷 I (批号 20022801, 质量分数 98.29%)、京尼平龙胆双糖苷 (批号 21090604, 质量分数 99.20%)、西红花苷 II (批号 19102303, 质量分数 98.84%) 均购于成都普菲德生物技术有限公司; 甲醇、甲酸、乙腈为色谱纯; 实验用水为经 Milli-Q Integral 3 型超纯水器处理后所得的超纯水。

16 批栀子药材 (编号 Z01~Z16) 购于 8 个不同的省份, 分别为浙江金华 (Z01)、苍南 (Z02), 四川成都 (Z03), 山西晋城 (Z04), 安徽亳州 (Z05)、六安 (Z06), 江西井冈山 (Z07)、九江 (Z08)、上饶 (Z09)、樟树 (Z10), 湖北神农架 (Z11)、蕲春 (Z12), 福建三明 (Z13)、福安 (Z14), 湖南岳阳 (Z15)、湘潭 (Z16); 分别取上述栀子药材按照《中国药典》2020 年版饮片项下制备成相对应的净栀子饮片 (ZP01~ZP16); 辅料生姜购于江苏南京。经南京中医药大学陈建伟教授鉴定, 分别为茜草科栀子属植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实、姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎。经检测均符合《中国药典》2020 年版的质量要求。

2 方法与结果

2.1 栀子姜炙制备方法

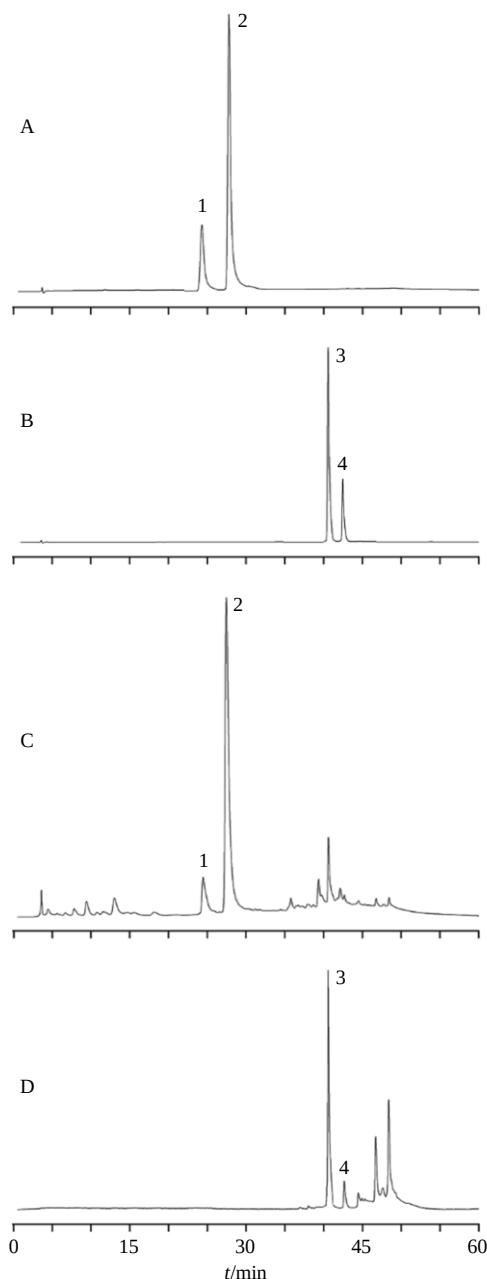
2.1.1 辅料姜汁的制备 取生姜 100 g, 洗净, 捣碎, 加水适量榨汁, 用 4 层纱布滤过。姜渣再加水适量, 重复压榨 2 次, 合并汁液, 最后得生姜汁 100 mL (每 1 mL 生姜汁相当于生姜 1 g)。

2.1.2 姜栀子的制备 取 100 g 净栀子饮片, 加入一定量的姜汁拌匀, 润透, 置于已设定相应功率的炒制容器内, 翻炒至规定程度, 取出, 晾凉, 即得。其中姜汁用量以净栀子饮片质量的百分比表示。如 10% 的姜汁用量即指 100 g 净栀子饮片所用姜汁量为 10 g。

2.2 指标成分的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent C-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~15 min, 96%~88% 乙腈; 15~30 min, 88%~80% 乙腈; 30~35 min, 80%~74% 乙腈; 35~45 min, 74%~60% 乙腈; 45~60 min,

60%~96%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 254 nm 和 440 nm; 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL。经上述色谱条件进样检测, 样品中栀子苷和西红花苷 I 色谱峰的保留时间与对照品的保留时间相一致, 均能达到很好的分离效果。对照品及样品的 HPLC 图见图 1。



1-京尼平龙胆双糖苷; 2-栀子苷; 3-西红花苷 I; 4-西红花苷 II。
1-genipin-1-β-D-gentiobioside; 2-geniposide; 3-crocin I; 4-crocin II.

图 1 混合对照品 (254 nm, A; 440 nm, B) 和姜栀子样品 (254 nm, C; 440 nm, D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (254 nm, A; 440 nm, B) and *Gardeniae Fructus* processed with ginger juice (254 nm, C; 440 nm, D)

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I 和西红花苷 II 适量, 配制成质量浓度为 1.904、1.816、1.991、1.211 mg/mL 的混合对照品储备液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取按“2.1.2”项下制成的姜栀子饮片, 打粉。精密称取其粉末 (过四号筛) 0.1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50%甲醇 20 mL, 称定质量, 超声处理 40 min (功率 250 W、频率 40 kHz), 放冷, 称定质量, 用 50%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 高速 (12 000 r/min) 离心 (离心半径 5 cm) 10 min, 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下混合对照品储备液, 按倍比稀释原则制备成系列混合对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 以峰面积平均值 (Y) 对质量浓度 (X) 进行线性回归, 计算回归方程分别为京尼平龙胆双糖苷 $Y=647.030X+1.5172$, $r=0.9999$, 线性范围 59.6~952.0 μg/mL; 栀子苷 $Y=2843.000X+2.6971$, $r=0.9995$, 线性范围 56.8~908.0 μg/mL; 西红花苷 I $Y=2460.700X-22.152$, $r=0.9994$, 线性范围 62.2~996.0 μg/mL; 西红花苷 II $Y=1012.800X-12.951$, $r=0.9996$, 线性范围 75.7~605.5 μg/mL。

2.2.5 精密度试验 精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录各色谱峰峰面积, 根据目标化合物峰面积计算其 RSD。结果京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 峰面积的 RSD 分别为 0.66%、0.52%、0.47%、0.67%, 结果表明仪器系统精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取编号为 Z06 的栀子药材, 按“2.1.2”项下方法制成姜栀子饮片, 精密称取姜栀子样品粉末 6 份, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 按标准曲线法计算出各目标化合物的含量, 并计算得各目标化合物含量的 RSD。结果京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 的平均质量分数分别为 2.706 8%、8.052 3%、6.095 2%、1.213 8%, 其 RSD 分别为 1.40%、0.22%、0.71%、0.68%, 结果表明所建立的试验方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 取编号为 Z06 的栀子药材, 按“2.1.2”项下方法制成姜栀子饮片, 精密称取同一份样品粉末, 按“2.2.3”项下方法制备成供试品溶液,

分别在制备后 0、2、4、8、12、24 h 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，根据目标化合物峰面积计算其 RSD。结果京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 峰面积 RSD 分别为 0.80%、0.73%、0.63%、0.92%，结果表明供试品溶液在室温密闭条件下放置 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取编号为 Z06 的栀子药材，按“2.1.2”项下方法制成姜栀子饮片，精密称取 0.05 g 已知各指标成分含量的姜栀子粉末 9 份，分成 3 组，每组分别精密加入 0.5、1.0、1.5 mL 的混合对照品溶液（其中 1.0 mL 混合对照品溶液中指标成分质量浓度与样品中指标成分质量浓度总体相当），按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.1”

项下色谱条件进样测定，计算各目标化合物的加样回收率及其 RSD。结果京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 的平均加样回收率分别为 100.12%、100.09%、99.99%、100.21%，RSD 分别为 1.20%、0.90%、0.80%、1.30%，结果表明该试验所建立的含量测定方法准确度良好。

2.3 姜栀子炮制工艺考察

2.3.1 BBD-RSM 试验设计 根据本课题组前期研究情况^[10]，选择炒制火力（ X_1 ）、炒制时间（ X_2 ）、姜汁用量（ X_3 ）3 个因素设计响应面试验，Y 为综合评分。炮制工艺评价选择栀子苷、西红花苷 I、醇溶性浸出物的含量及外观性状（颜色+气味）作为指标。BBD-RSM 试验设计与结果见表 1，外观性状

表 1 BBD-RSM 试验设计与结果
Table 1 Design and results of BBD-RSM

组别	X_1/W	X_2/min	$X_3/\%$	性状 评分	色度值				栀子苷/ %	西红花苷 I/%	醇溶性浸 出物/%	性状（颜色+ 气味）	Y
					L^*	a^*	b^*	E^*_{ab}					
1	300 (-1)	3 (-1)	10 (0)	5	44.637	22.697	23.610	55.362	5.962 1	6.459 2	18.37	10 (5+5)	86.136 7
2	500 (+1)	3 (-1)	10 (0)	4	47.987	23.723	28.127	60.470	4.882 4	4.199 5	20.11	8 (4+4)	69.262 4
3	300 (-1)	7 (+1)	10 (0)	3	45.100	19.437	23.213	54.320	4.828 7	3.606 2	21.89	7 (3+4)	67.780 4
4	500 (+1)	7 (+1)	10 (0)	1	38.037	11.077	11.563	41.270	4.556 8	3.599 6	23.23	4 (1+3)	59.891 7
5	300 (-1)	5 (0)	8 (-1)	4	46.537	23.437	26.960	58.667	6.525 0	5.413 2	24.33	8 (4+4)	84.163 9
6	500 (+1)	5 (0)	8 (-1)	2	41.613	16.887	18.127	45.110	8.502 7	4.528 7	19.19	6 (2+4)	78.808 4
7	300 (-1)	5 (0)	12 (+1)	4	46.577	23.813	25.957	58.397	7.325 2	5.324 1	22.05	6 (4+2)	80.699 3
8	500 (+1)	5 (0)	12 (+1)	3	44.633	18.840	22.053	53.230	5.701 3	3.998 5	19.17	6 (3+3)	66.445 4
9	400 (0)	3 (-1)	8 (-1)	3	46.987	23.537	26.543	52.804	6.026 4	5.448 4	21.99	7 (3+4)	80.642 8
10	400 (0)	7 (+1)	8 (-1)	3	43.750	17.460	20.913	47.327	5.937 2	3.537 8	22.78	4 (3+1)	68.120 3
11	400 (0)	3 (-1)	12 (+1)	4	46.173	22.803	24.987	57.239	7.303 9	5.553 2	23.90	4 (2+2)	79.210 2
12	400 (0)	7 (+1)	12 (+1)	2	40.850	14.327	15.200	45.881	7.212 5	3.567 1	20.23	4 (2+2)	66.645 1
13	400 (0)	5 (0)	10 (0)	5	45.420	21.837	23.500	55.606	8.002 4	6.002 1	18.69	10 (5+5)	91.475 9
14	400 (0)	5 (0)	10 (0)	5	45.397	21.837	23.500	55.588	8.000 0	6.000 0	17.83	10 (5+5)	90.748 7
15	400 (0)	5 (0)	10 (0)	5	45.377	21.850	23.537	55.592	8.000 3	6.003 3	18.27	10 (5+5)	91.125 3
16	400 (0)	5 (0)	10 (0)	5	45.360	21.857	23.537	55.581	8.027 9	6.020 6	18.98	10 (5+5)	91.890 9
17	400 (0)	5 (0)	10 (0)	5	45.340	21.867	23.547	55.573	8.039 7	6.018 3	20.16	10 (5+5)	92.893 9

评分标准见表 2。

按照 Box-Behnken 试验设计原理进行试验设计，根据各指标重要程度确定综合评分的方法，具体计算方法见如下公式。

$$Y=100\times[30\%\times(S_{1i}/S_{1max}+S_{2i}/S_{2max})+20\%\times(S_{3i}/S_{3max}+P_i/P_{max})]$$

i 表示组别编号， S_{1i} 、 S_{2i} 、 S_{3i} 分别对应各组别姜栀子饮片栀子苷含量、西红花苷 I 含量、醇溶性浸出物含量， S_{1max} 、 S_{2max} 、 S_{3max} 分别对应所有组别姜栀子饮片栀子苷含量、西红花苷 I

表 2 姜栀子外观性状评分

Table 2 Evaluation of appearance of *Gardeniae Fructus* processed with ginger juice

外观性状	评分
姜辣味浓郁，表面金黄色	5
明显有姜辣味，红黄至金黄色	4
姜辣味较淡，焦黄色	3
姜辣味淡并略有焦香味，微褐色	2
焦味浓烈，焦褐色	1

含量、醇溶性浸出物含量的最大值, P_i 为各组别姜栀子饮片性状评分 (颜色+气味) (分), $P_{\max}$ 为所有组别姜栀子饮片性状评分最大值 (分)

2.3.2 栀子姜炙外观性状研究

(1) 色泽评价: 根据响应面法设计的试验分组进行测色试验, 按“2.1”项下方法制备姜栀子饮片并粉碎过三号筛, 备用。测色仪测定光源 D65, 视角测量口径 $\varnothing$ 3 mm, 测定试场 10° , 测量波长 360~740 nm, 测量波长间隔 10 nm, 照明光源脉冲氙灯, SCE 模式 (不包含镜面反射光), 30 mm。零校正 (放置透明片、黑筒) 与用户校正 (放置透明片、白板)。将 4.0 g 样品粉末均匀平铺在测试皿内采集图像并记录色度值, 平行测定 3 次取平均值。

以明度值 (L^*)、红绿值 (a^*) 和黄蓝值 (b^*) 来表示色号并计算总色度值 (E_{ab}^*), 公式为 $E_{ab}^* = (L^{*2} + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, E_{ab}^* 越大颜色越浅^[11]。其中 L^* 由 0~100 表示颜色由黑到白; a^* 由正到负表示颜色由

红到绿色; b^* 由正到负表示颜色由黄到蓝^[12-13]。可用总色差值 (ΔE_{ab}^*)^[11] 表示 2 个色号之间的色差, 计算公式为 $\Delta E_{ab}^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$, 规定当 $\Delta E_{ab}^* > 1.5$ 时, 表示待测样品颜色间有明显差异^[14]。颜色评分范围见表 3, 不同炮制程度姜栀子饮片见图 2。由表 3 可知, 评分 4 的总体亮度最高, 颜色最浅, 总体偏红偏黄, 符合主体红黄色的外观性状描述; 相比评分 4, 评分 5 的姜栀子亮度、红色度、黄色度均较小, 故呈现金黄色的外观; 评分 3、2、1 的姜栀子亮度、红色度、黄色度随着评分降低其下降幅度很大, 其亮度逐渐变暗, 颜色也逐渐加深, 与肉眼所见的主观感受相符合。取各个评分 L^* 、 a^* 、 b^* 的平均值代入 ΔE_{ab}^* 的计算公式, 各个评分之间的 ΔE_{ab}^* 按照评分顺序从高到低分别为 3.657、5.207、8.678、7.533 均远大于规定所述的 1.5, 说明不同评分的姜栀子饮片颜色有明显差异, 故采用电子眼测色评价姜栀子的炮制程度是可行的。

表 3 姜栀子颜色评分范围

Table 3 Color rating range of *Gardeniae Fructus* processed with ginger juice

颜色 评分	色度值范围			
	L^*	a^*	b^*	E_{ab}^*
5	44.600~45.500	21.800~22.700	23.500~23.700	55.300~56.600
4	100.000~48.100	22.800~23.800	25.000~28.200	57.200~60.500
3	43.700~46.100	17.400~23.500	20.900~26.500	47.300~54.300
2	40.700~41.600	14.300~16.900	15.200~18.200	45.100~46.900
1	38.000 及以下	11.100 及以下	11.600 及以下	41.300 及以下



图 2 不同炮制程度姜栀子饮片

Fig. 2 Different processing degrees of *Gardeniae Fructus* processed with ginger juice

(2) 气味评价: 随机选取 15 名嗅觉正常的健康人员对炮制后的姜栀子饮片进行气味测评, 取其平均值作为气味评分 (评分标准见表 2)。气味评分结果见表 1。

2.3.3 BBD-RSM 试验结果 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 按照标准曲线法计算, 得出栀子苷、西红花苷 I 的含量; 浸出物测定按照《中国药典》2020 年版测定方法 (通则 2201), 采用热浸法提取

醇溶性浸出物, 提取溶剂为乙醇。结果见表 1。

利用 Design-Expert 10.0 软件处理实验数据, 对各因素分别进行多元线性回归和二项拟合, 得到回归方程 $Y = -201.5908 + 0.6529X_1 + 24.5699X_2 + 24.6618X_3 + 0.0065X_1X_2 - 0.0061X_1X_3 - 0.0811X_2X_3 - 0.0008X_1^2 - 2.9337X_2^2 - 1.1395X_3^2$, 判定系数 (R) 0.9820。回归模型具体数据见表 4, 本次建立的模型 $P < 0.001$, F 值为 42.4414, 表明此响应回归模型达到了极显著性水平, 具有统计学意义,

表 4 Box-Behnken 回归模型方差与显著性分析

Table 4 Analysis of variance and significance of Box-Behnken regression model

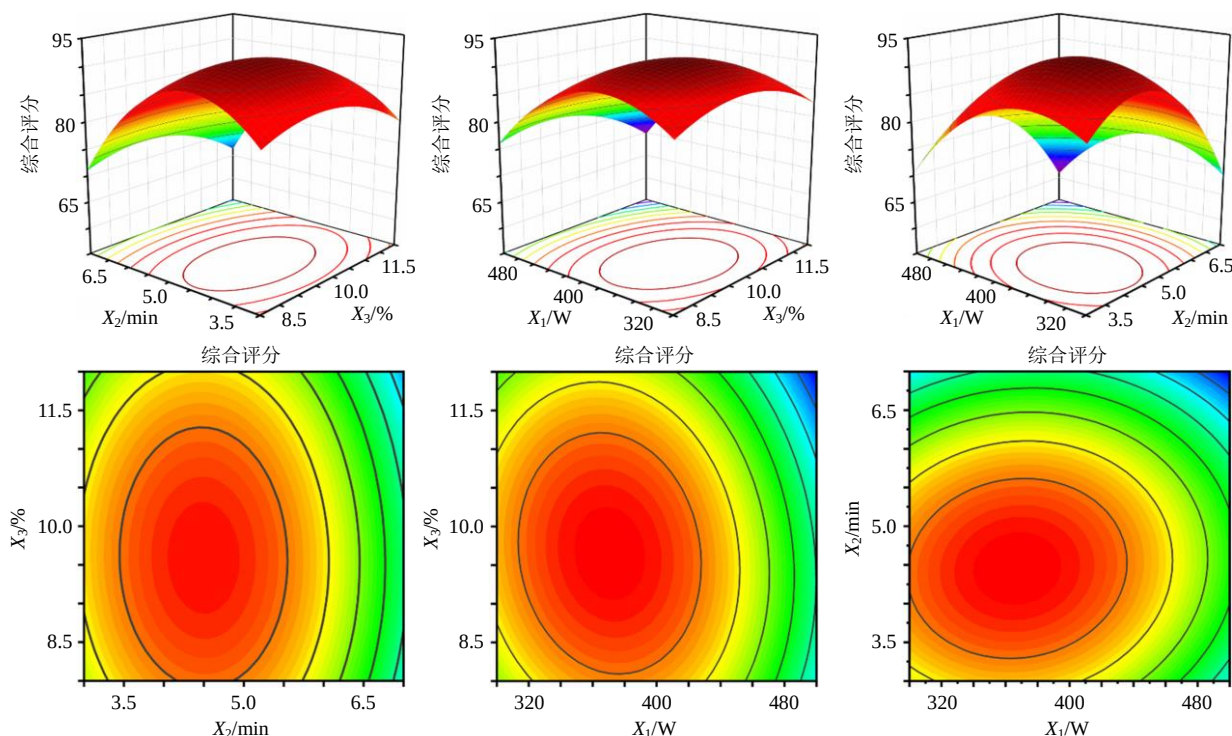
来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性	来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性
模型	1 608.132	9	178.681	42.441 4	2.772×10^{-5}	极显著	X_1^2	300.608	1	300.608	71.402 1	6.417×10^{-5}	极显著
X_1	214.217	1	214.217	50.882 0	1.881×10^{-4}	极显著	X_2^2	579.877	1	579.877	137.735 5	7.381×10^{-6}	极显著
X_2	288.993	1	286.993	68.168 1	7.448×10^{-5}	极显著	X_3^2	87.470	1	87.470	20.776 4	2.611×10^{-3}	高度显著
X_3	30.263	1	30.263	7.188 2	0.031 5	显著	残差	29.471	7	4.210			
X_1X_2	6.681	1	6.681	1.586 9	0.248 1		失拟项	22.522	3	7.507	4.321 9	0.095 6	不显著
X_1X_3	5.951	1	5.951	1.413 6	0.273 2		纯误差	6.948	4	1.737			
X_2X_3	0.421	1	0.421	0.099 9	0.761 1		总离差	1 637.602	16				

且失拟项 P 值为 $0.095\ 6 > 0.05$, F 值为 $4.321\ 9$, 失拟项不显著, 表明无失拟因素存在。因此, 该回归方程可对实验结果进行分析。根据模型的判定系数 ($R^2=0.982\ 0$)、调整判定系数 ($R_{adj}^2=0.958\ 9$) 和预测判定系数 ($R_{pre}^2=0.943\ 3$), 可知有 4.11% 的变异不能用该模型解释, 说明该模型拟合性较好; 变异系数 (CV) $2.58\% < 10\%$ 表明试验精确度可信度高。精密度是有效信号与噪声的比值, 为 $19.099\ 5 > 4$, 说明试验较为合理。

拟合模型中各系数的绝对值大小直接反映各因素对指标值的影响程度, X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 项 P 值具有统计学意义 (均 < 0.05), 对综合评分均

有影响。其中单因素项的 X_1 (炒制火力) 和 X_2 (炒制时间) 对模型的影响表现出极显著性水平 ($P < 0.001$), 对综合评分影响较大, 表明这 2 项是影响姜栀子饮片质量的主要因素。 X_3 (姜汁用量) 虽然不是影响姜栀子饮片质量的主要因素, 但仍表现出显著性水平 ($P < 0.05$)。根据 F 值大小得 3 个因素对姜栀子炮制品质量影响的贡献率为 $X_2 > X_1 > X_3$ 。

根据拟合回归方程, 运用 Origin 2018 软件建立矩阵并绘制三维效应面图和等高线图, 结果见图 3。右侧各影响因素两两交互的等高线均呈现椭圆形, 说明各因素交互作用较为显著。结合左侧三维效应面图可知, 炒制火力 (X_1)、炒制时间 (X_2) 的三维

图 3 炒制温度 (X_1)、炒制时间 (X_2)、姜汁用量 (X_3) 3 因素对综合评分的三维效应面图和等高线图Fig. 3 Response and contour surface plots of processing firepower (X_1), frying time (X_2) and the amount of ginger juice (X_3) three factors to composite score

图倾斜度较高,坡度较陡,颜色加深变化显著,说明这 2 个因素对姜栀子炮制工艺综合评分影响较为显著,该结论与方差分析结果一致。

利用软件进行数据预测可知,姜栀子的最优炮制工艺为炒制火力 368.543 W,炒制时间 4.459 min,姜汁用量 9.677%,综合评分为 92.805 分。结合实际操作,将最佳工艺修正为炒制火力 400 W,炒制时间 4.5 min,姜汁用量 10%。

2.4 姜炙工艺验证试验

按照上述优化工艺制备 3 份样品,样品表面呈

金黄色,具姜辣味。具体评分结果见表 5,结果表明本研究优选出的姜栀子炮制工艺稳定可行。

2.5 栀子姜炙前后化学成分变化

取“1.2”项下的净栀子饮片(ZP01~ZP16);按照优选工艺制备姜栀子饮片(JZP01~JZP16),按“2.2”项下方法进行测定,计算各成分含量,实验结果见表 6。栀子饮片经姜炙后其中的京尼平龙胆双糖苷、栀子苷的含量均有上升;西红花苷 I、II 的含量显著降低,尤以西红花苷 II 含量下降最为显著,平均下降幅度约为 46%。

表 5 验证试验结果

Table 5 Results of verification test

试验号	栀子苷/%	西红花苷 I/%	浸出物/%	性状/分	综合评分/分	平均值	RSD/%
1	8.017 5	6.101 0	20.110 2	10	93.156 0		
2	8.035 7	6.009 5	20.008 6	10	92.711 3	93.013 1	0.281
3	8.008 7	6.126 4	20.024 1	10	93.172 0		

表 6 16 批栀子饮片和姜栀子饮片样品中 4 种成分含量测定 (n = 3)

Table 6 Contents of four compounds in Gardeniae Fructus samples (n = 3)

样品 编号	京尼平龙胆双糖苷/%		栀子苷/%		西红花苷 I/%		西红花苷 II/%	
	栀子饮片	姜栀子饮片	栀子饮片	姜栀子饮片	栀子饮片	姜栀子饮片	栀子饮片	姜栀子饮片
01	2.135 4	2.554 3	7.512 2	8.050 4	7.124 5	6.111 1	2.218 6	1.243 3
02	2.125 3	2.766 5	7.525 2	8.043 3	7.235 5	6.124 3	2.226 5	1.212 2
03	2.118 4	2.433 3	7.541 1	8.027 6	7.331 2	6.109 8	2.237 7	1.202 0
04	2.132 1	2.656 4	7.621 3	8.042 2	7.365 4	6.134 2	2.211 5	1.221 3
05	2.133 1	2.686 9	7.662 2	8.064 1	7.287 6	6.009 8	2.443 3	1.204 5
06	2.137 7	2.706 8	7.567 7	8.052 3	7.434 4	6.095 2	2.248 1	1.213 8
07	2.126 5	2.664 3	7.593 2	8.042 2	7.552 1	6.105 4	2.221 5	1.221 4
08	2.133 2	2.688 7	7.581 2	8.065 5	7.467 7	6.104 3	2.243 2	1.220 9
09	2.128 8	2.732 2	7.508 1	8.082 1	7.166 2	6.135 4	2.238 8	1.209 6
10	2.126 3	2.768 5	7.523 3	8.054 4	7.242 3	6.151 5	2.351 3	1.237 8
11	2.167 7	2.821 3	7.891 1	8.121 4	7.397 1	6.213 3	2.433 3	1.256 2
12	2.170 4	2.838 1	7.932 1	8.116 5	7.548 8	6.221 4	2.536 1	1.244 4
13	2.153 3	2.512 3	7.786 5	8.126 5	7.512 2	6.083 4	2.376 6	1.221 3
14	2.159 2	2.442 2	7.657 1	8.082 1	7.254 1	6.114 2	2.286 1	1.210 7
15	2.148 6	2.353 1	7.576 3	8.064 2	7.143 8	6.020 1	2.235 0	1.201 3
16	2.139 2	2.321 9	7.751 4	8.057 7	7.072 1	6.065 5	2.101 2	1.200 3

3 讨论

目前,针对姜栀子的研究较少且研究内容基本都以单个成分含量检测为主,缺少其他的代表性成分。本研究引入电子眼测色这一技术,将外观评价的色泽进行量化,减少了主观因素带来的评判失误,这样就能更加科学合理地对姜栀子饮片的炮制程度

进行客观评判。

本研究发现栀子在姜炙过程中其外观性状与内在化学成分均发生了变化。栀子在姜炙不及时呈现原本的红黄色,在姜炙得当后呈现金黄色,在姜炙太过时颜色逐渐呈棕褐色;栀子经姜炙后,其中所含的栀子苷与京尼平龙胆双糖苷的含量均有上升,

该结果与其他学者的研究相一致^[10,15]；西红花苷 I、II 的含量显著降低，尤以西红花苷 II 下降最为显著，可能与其作为长链结构的化合物性质不稳定，较易转化为其他物质有关^[16-17]。

在进行气味评价试验时，本实验参考姜炙工艺的相关文献报道^[18-20]，发现目前尚未见测试气味时所采用的测试人员的相关信息（健康状况、人数）。为了使得气味评分结果更具客观性，本实验选择 15 名具有正常嗅觉的健康人员进行测试评分，然后取平均值的方法来获得最终的气味测试结果，从而保证气味评价数据的合理性。

本实验将颜色变化以客观量化方式纳入考察范畴，使得试验结果更加科学、准确、客观。在考察指标方面选用了梔子中的梔子苷、西红花苷等具有生理活性的物质作为评价指标，相比于单一化学成分的考察更加合理，且这些指标成分在实际测定过程中耗费的成本较低，符合企业大规模生产的要求。

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]. 一部. 2020: 259.
- [2] 赵梦亭, 朱如意, 应佳亮, 等. 梔子炮制历史沿革、临床应用及质量评价研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(4): 2229-2237.
- [3] Wang L L, Wu G X, Wu F H, *et al.* Geniposide attenuates ANIT-induced cholestasis through regulation of transporters and enzymes involved in bile acids homeostasis in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 196: 178-185.
- [4] Shen B Y, Feng H H, Cheng J Q, *et al.* Geniposide alleviates non-alcohol fatty liver disease via regulating Nrf2/AMPK/mTOR signalling pathways [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(9): 5097-5108.
- [5] Li F H, Li W H, Li X G, *et al.* Geniposide attenuates inflammatory response by suppressing P2Y14 receptor and downstream ERK1/2 signaling pathway in oxygen and glucose deprivation-induced brain microvascular endothelial cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 185: 77-86.
- [6] Noto C, Rizzo L B, Mansur R B, *et al.* Targeting the inflammatory pathway as a therapeutic tool for major depression [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2014, 21(2/3): 131-139.
- [7] Ruan J, Liu L, Shan X, *et al.* Anti-depressant effects of oil from *Fructus Gardeniae* via PKA-CREB-BDNF signaling [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(4): BSR20190141.
- [8] 汉·张仲景. 注解伤寒论 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1973: 82.
- [9] 王孝涛. 历代中药炮制法汇典: 古代部分 [M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 1986: 330-331.
- [10] 曹虹虹, 严维花, 郭爽, 等. 梔子姜炙工艺及姜炙前后化学成分变化研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(24): 5413-5420.
- [11] 于淼, 代悦, 刘涛涛, 等. 基于物质基础与颜色变化相关性分析的制何首乌古今炮制方法探讨 [J]. 中草药, 2023, 54(11): 3480-3488.
- [12] 张雪, 李晓庆, 王云, 等. 焦梔子炒制过程中 HPLC 图谱变化与外观颜色的动态关联研究 [J]. 中草药, 2018, 49(17): 4029-4037.
- [13] 陈鹏, 肖晓燕, 梅茜, 等. 基于仿生技术对薏苡仁麸炒过程中色泽气味变化研究 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4285-4297.
- [14] 滕秀金, 邱迦易, 曾晓栋. 颜色测量技术 [M]. 北京: 中国计量出版社, 2007: 46.
- [15] 张村, 李雨田, 肖永庆, 等. 姜制对梔子中主要化学成分的影响 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7): 962-965.
- [16] 李丽, 肖永庆, 栾兰, 等. 不同炮制方法对梔子姜炙前后二萜色素类成分的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(4): 39-41.
- [17] 鲍家科, 刘玲. 梔子药材及其炮制品的指纹图谱对比 [J]. 中国医药工业杂志, 2016, 47(2): 163-167.
- [18] 阴美华, 袁蒙蒙, 唐志书, 等. 姜厚朴的微波炮制工艺的响应面法优化 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(10): 2404-2407.
- [19] 王鑫. 黄连、姜黄连的炮制工艺及质量控制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [20] 曹虹虹, 严维花, 郭爽, 等. 梔子姜炙工艺及姜炙前后化学成分变化研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(24): 5413-5420.

[责任编辑 郑礼胜]