

基于响应面法结合总评归一法优化泽泻趁鲜切制加工工艺

林龙, 先蕊, 赵璐璐, 王艺娱, 兰志琼*, 潘晓丽, 李敏

成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室, 成都 611137

摘要: 基于响应面法结合总评归一法优选泽泻趁鲜切制加工工艺。以外观性状和加工能耗为评价指标, 采用单因素实验筛选出影响泽泻趁鲜切制加工工艺因素的中心点。在单因素实验基础上, 以醇溶性浸出物、总三萜、总多糖、23-乙酰泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 A 和泽泻醇 B 含量的总评归一值为评价指标, 以水分含量 (30%、40%、50%)、切片厚度 (3、4、5 mm)、干燥温度 (40、50、60 °C) 为考察因素, 根据响应面实验原理, 设计三因素三水平响应面实验优化泽泻趁鲜切制加工工艺。最终获得泽泻趁鲜切制加工最佳工艺条件为水分含量 40%, 切片厚度 4 mm, 干燥温度 50 °C。响应面法优选泽泻趁鲜切制加工工艺切实可行, 具有较强的实际意义, 优选的趁鲜切制加工工艺简便、稳定, 为泽泻趁鲜切制加工生产提供了科学依据。

关键词: 泽泻; 趁鲜切制; 加工工艺; 响应面法; 总评归一法

中图分类号: R283.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)10-1755-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.10.012

Optimization of fresh cutting processing technology of *Alismatis Rhizoma* by Box-Behnken response surface methodology combined with overall desirability

LIN Long, XIAN Rui, ZHAO Lu-lu, WANG Yi-yu, LAN Zhi-qiong*, PAN Xiao-li, LI Min

State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy,
Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: To optimize the fresh cutting processing technology for *Alismatis Rhizoma* by response surface methodology combined with the overall desirability. By considering the appearance character and processing energy consumption as the evaluation indicators, the center point affecting the processing factors of fresh cutting was selected after conducting the single factor experiment. According to the experimental principles of the response surface, three factors and three horizontal response surface experiment based on the single factor experiment was designed to optimize the fresh cutting processing process by taking the alcohol-soluble extract, total triterpenoids, total polysaccharides, alisol B 23-acetate, alisol C 23-acetate, alisol A 24-acetate and alisol B content, the overall desirability of this content as evaluation indicators, and taking the moisture content (30%, 40%, 50%), slice thickness (3, 4, 5 mm), and drying temperature (40, 50, 60 °C) as investigation factors. Finally, the optimum fresh cutting processing technological conditions for *Alismatis Rhizoma* were obtained as follows: moisture content of 40%, slice thickness of 4 mm, and drying temperature of 50 °C. The fresh cutting processing technology selected in this study was practicable and has a strong practical significance. The optimized fresh cutting processing technology is simple and stable, which provides a scientific basis for the production and processing of fresh cutting.

Key words: *Alismatis Rhizoma*; fresh cutting; processing technology; response surface methodology; overall desirability

收稿日期: 2023-02-17

接受日期: 2023-06-08

基金项目: 四川省药品监督管理局中药(民族药)标准提升项目(510201202102305); 2019 年国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人函[2019]41 号); 成都中医药大学“杏林学者”学科人才科研提升计划(XCZX2022006)

* 通信作者 Tel: 86-28-61800231; E-mail: lanlan1979512@126.com

中药泽泻为泽泻科植物东方泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. 或泽泻 *Alisma plantago-aquatica* Linn. 的干燥块茎, 收载于《中华人民共和国药典》2020 年版(以下简称《中国药典》), 具有利水渗湿, 泄热, 化浊降脂的功效, 主要用于小便不利、水肿胀满、泄泻尿少、痰饮眩晕、热淋涩痛、高脂血症等^[1]。

泽泻药材及饮片传统加工过程包括净制、干燥、除杂、反复干燥后加工为药材,然后经浸润,润透,切厚片,再干燥为饮片。整个过程须反复浸润、两次干燥,步骤繁琐,耗时费力,且多以人工传统经验为主,主观性强,机械化程度低,不易控制,不利于产业化发展。《国家药监局综合司关于中药饮片生产企业采购产地加工(趁鲜切制)中药材有关问题的复函》(药监综药管函[2021]367号)中明确指出“趁鲜切制是产地加工的方式之一,将采收的新鲜中药材切成片、段、块、瓣等,虽然改变了中药材形态,但未改变中药材性质,且减少了中药材经干燥、浸润、切制、再干燥的加工环节,一定程度上有利于保障中药材质量。”可见,针对泽泻进行趁鲜切制加工工艺研究并进一步将其应用于工业化生产,高度符合中药产业高质量发展趋势,但目前尚未见相关研究报道。

中药质量的影响因素众多,化学成分复杂,通过检测其中一两种活性成分不能够全面反映其质量及整体疗效^[2]。除现行《中国药典》收载的23-乙酰泽泻醇B(alisol B 23-acetate, 23-AB)及23-乙酰泽泻醇C(alisol C 23-acetate, 23-AC)以外,24-乙酰泽泻醇A^[3](alisol A 24-acetate, 24-AA)、泽泻醇B^[4](alisol B, AB)、泽泻多糖^[5]等也是中药泽泻重要的活性成分。故本研究在《中国药典》泽泻项下规定的性状、醇溶性浸出物(ASE)、23-AB和23-AC总含量等质量评价指标的基础上,首次将泽泻总三萜(Alismatis Rhizoma triterpenoids, ART)、泽泻总多糖(Alismatis Rhizoma polysaccharides, ARP)、24-AA、AB等含量也纳入考核指标,旨在更全面地反映泽泻药材的质量。

因此,本文在前期明确泽泻加工工艺主要影响因素的基础上,通过单因素实验确定各因素参数范围,运用响应面法结合总评归一法^[6-10]进一步优化泽泻趁鲜切制加工工艺,并与其传统加工方法进行比较,以期获得一种更好的泽泻产地加工方法,为泽泻加工产业的规范化、规模化发展,提高泽泻相关产品质量提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

泽泻药材商品按产地分建泽泻和川泽泻,目前川泽泻产销量占全国80%以上。故实验以川泽泻为研究对象。样品于2022年1月采自四川省眉山市彭山区谢家街道,经成都中医药大学药学院兰志琼副教授鉴定为泽泻科植物泽泻 *Alisma plantago-*

aquatica Linn. 的新鲜块茎。

1.2 仪器与试剂

DHS-10A 快速水分测定仪(邦西仪器科技上海有限公司);SP-754P 型紫外分光光度计(上海光谱仪器有限公司);Thermo Ultimate 3000 高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技中国有限公司)。

95%乙醇、冰醋酸、浓硫酸、高氯酸、苯酚、香草醛为分析纯;乙腈为色谱纯;对照品23-AB(批号: MUST-21030408, 纯度 $\geq 98.0\%$)、23-AC(批号: MUST-21032311, 纯度 $\geq 98.0\%$)、24-AA(批号: MUST-21052104, 纯度 $\geq 98.0\%$)、AB(批号: MUST-21062305, 纯度 $\geq 98.0\%$)、D-无水葡萄糖(批号: MUST-22030214, 纯度 $\geq 98.0\%$)均购于成都曼斯特生物科技有限公司。

1.3 单因素实验

课题组前期已基本确定水分含量、切片厚度、干燥温度为泽泻趁鲜切制加工工艺的主要影响因素。故采用控制变量法,在不改变其他条件下,分别考察不同水分含量(20%、30%、40%、50%、60%)、不同切片厚度(2、3、4、5、6 mm)、不同干燥温度(30、40、50、60、70℃)对趁鲜切制泽泻性状及能耗的影响,以确定后期工艺优化实验的考察范围。

结果显示,当水分含量为60%时,切面有白色汁液渗出(见图1A);水分含量为20%时,外表面较硬,不易切片,在切制过程易产生缺口、碎屑(见图1B)。切片厚度为2 mm时,极易产生翘片(见图1C);切片厚度为6 mm时,干燥后厚度 >4 mm,不符合药典泽泻饮片(厚片)规定。干燥温度为30℃时,干燥耗时长达72 h,能耗高,且极易因干燥不及时引起泽泻霉变甚至腐烂;干燥温度为70℃时,泽泻切片表面快速失水,结构急剧收缩,极易导致翘片,切片颜色变深(见图1D)。故后期工艺优化实验考察范围分别为:水分含量30%~50%,切片厚度3~5 mm,干燥温度40~60℃。

1.4 响应面法优化加工工艺

1.4.1 实验设计

基于单因素实验结果,以水分含量、切片厚度、干燥温度为考察因素,以ASE、ART、ARP、23-AB、23-AC、24-AA、AB的总评归一值(overall desirability, OD)为泽泻内在质量评价指标,进行三因素三水平响应面实验设计。因素水平设计见表1。每个实验组取5 kg大小均匀的新鲜泽泻。

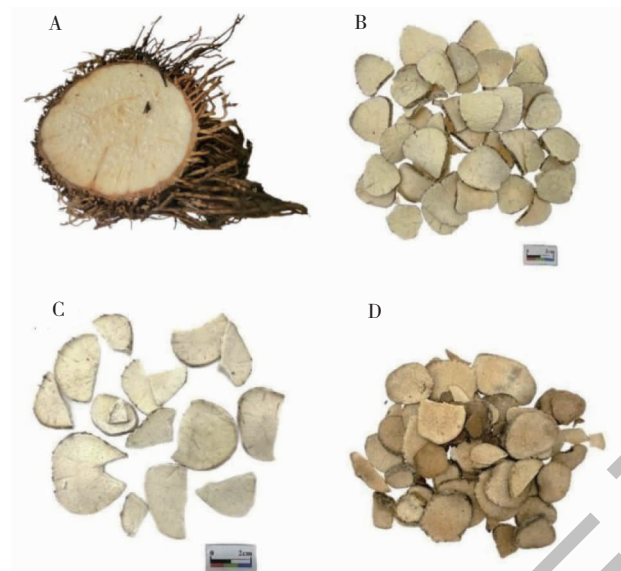


图1 单因素实验不合格条件样品图

Fig. 1 Sample plots of the unqualified conditions in the single factor experiment

表1 响应面实验设计的因素水平

Table 1 Factors and levels of the response surface experimental design

水平 Level	因素 Factor		
	X_1 水分含量 Moisture content (%)	X_2 切片厚度 Slice thickness (mm)	X_3 干燥温度 Drying temperature ($^{\circ}\text{C}$)
-1	30	3	40
0	40	4	50
1	50	5	60

1.4.2 OD值计算方法

采用 Hassan 法^[11]对泽泻 ASE、ART、ARP、23-AB、23-AC、24-AA、AB 含量进行归一化处理,按照公式(1)、(2)计算 OD 值。

$$d_i = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min}) \quad (1)$$

$$\text{OD} = (d_1 + d_2 + d_3 + d_4 + d_5 + d_6 + d_7) / 7 \quad (2)$$

式中: M_i 为每一指标的原始值, M_{\max} 、 M_{\min} 为每一指标在所有实验组中的最大值和最小值。 d_1 、 d_2 、 d_3 、 d_4 、 d_5 、 d_6 、 d_7 分别为泽泻 ASE、ART、ARP、23-AB、23-AC、24-AA、AB 含量的归一化处理后的值。

1.4.3 验证实验与工艺比较

按照响应面法优化的实验结果,综合考虑实际生产需求,确定泽泻趁鲜切制工艺参数。取大小均匀的新鲜泽泻块茎 30 kg,等分为 6 组,3 组按照确定的趁鲜切制工艺加工,3 组按照传统加工工艺加工,测定各组泽泻内在质量指标并计算各组归一值

(OD)。

1.5 ASE 测定

参照《中国药典》四部通则 2201 浸出物测定法(热浸法)及一部泽泻项下规定方法。

1.6 ART 含量测定

1.6.1 供试品溶液制备

通过考察,取泽泻样品粉末(过四号筛)约 0.5 g,精密称定,置于 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入无水乙醇 20 mL,密塞,称定重量,超声提取 15 min,冷却至室温,无水乙醇补足失重,摇匀,过滤,即得。

1.6.2 标准曲线绘制

23-AB 标准曲线绘制:精密称取 23-AB 对照品 5.00 mg,用无水乙醇定容至 25 mL 容量瓶中,精密量取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,置于 10 mL 容量瓶中,加无水乙醇定容,得不同质量浓度的对照品溶液,按香草醛-高氯酸显色法^[12],精密量取各浓度对照品溶液 0.3 mL,加入 5% 香草醛冰乙酸溶液(新鲜配制)0.3 mL,高氯酸 0.8 mL,50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min,冷水浴至室温,加入 5 mL 冰乙酸,在 555 nm 波长测定吸光度,以浓度 c (mg/mL)为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制标准曲线,得线性方程, $A = 0.5823c - 0.0576$, $R^2 = 0.9991$,线性范围为 0.010 ~ 0.200 mg/mL。

1.7 ARP 含量测定

1.7.1 供试品溶液制备

取泽泻样品粉末(过四号筛)约 1.0 g,精密称

定,置于 250 mL 具塞锥形瓶中,精密加入蒸馏水 100 mL,加热回流 2 h,离心(10 000 r/min)5 min,过滤,精密量取滤液 2 mL,置于 50 mL 离心管中,精密加入无水乙醇 10 mL,置于 4 °C 冰箱冷藏 12 h,离心(10 000 r/min)5 min,过滤,沉淀加入 5 mL 蒸馏水溶解,溶液转移至 10 mL 容量瓶中,加蒸馏水定容,摇匀,即得供试品溶液。

1.7.2 标准曲线绘制

D-无水葡萄糖标准曲线绘制:精密称取 *D*-无水葡萄糖对照品 113.00 mg,用蒸馏水定容至 50 mL 容量瓶中,精密量取 *D*-无水葡萄糖对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,置于 10 mL 容量瓶中,加水定容,得不同质量浓度的对照品溶液,按苯酚-硫酸显色法^[13],精密量取各浓度对照品溶液 2 mL,分

别置于具塞试管中,加入 5% 苯酚溶液 1 mL,摇匀,再加入浓硫酸 5 mL,60 °C 水浴加热 20 min,取出后冷却至室温,溶液转移至 20 mL 容量瓶中,加水定容,在 490 nm 波长处测定吸光度,以浓度 c (mg/mL) 为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制标准曲线,得线性方程, $A = 0.7313c - 0.0482$, $R^2 = 0.9994$,线性范围为 0.266 ~ 1.356 mg/mL。

1.8 指标成分含量测定

1.8.1 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水(A)-乙腈(B), 梯度洗脱 (0 ~ 40 min, 45% ~ 100% B); 流速: 1 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测波长: 208、246 nm; 进样量: 20 μL。对照品、供试品溶液 HPLC 色谱图见图 2。

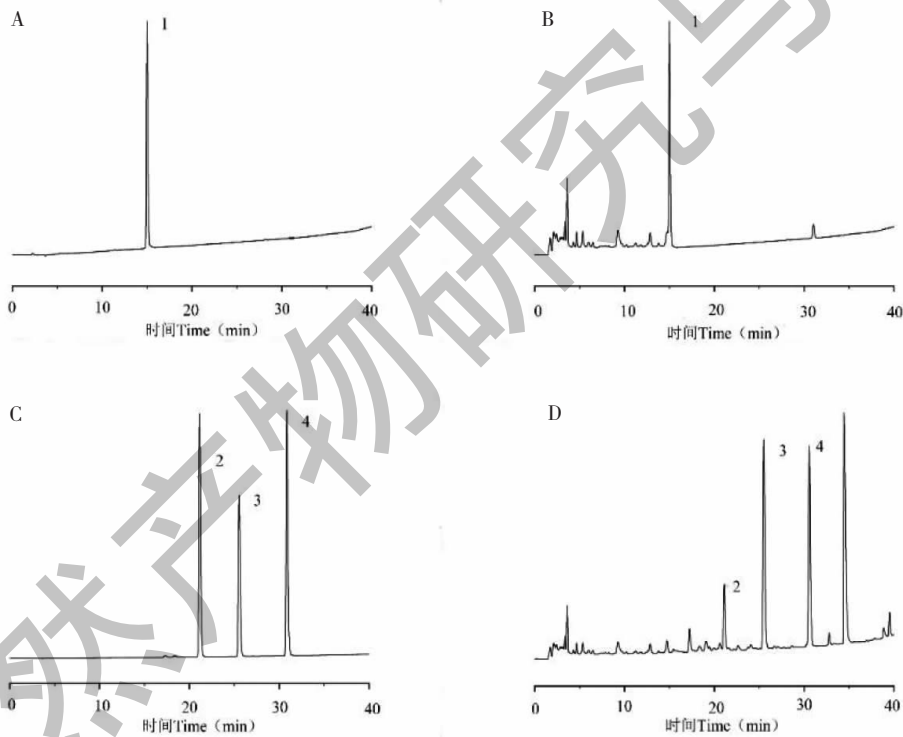


图 2 对照品及样品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of controls and samples

注: A、C: 对照品; B、D: 样品。1: 23-乙酰泽泻醇 C; 2: 24-乙酰泽泻醇 A; 3: 泽泻醇 B; 4: 23-乙酰泽泻醇 B。Note: A, C: Reference substances; B, D: Samples. 1: Alisol C 23-acetate; 2: Alisol A 24-acetate; 3: Alisol B; 4: Alisol B 23-acetate。

1.8.2 供试品溶液制备

取泽泻样品粉末(过四号筛)约 1.0 g,精密称定,置于 150 mL 具塞锥形瓶中,精密加入乙腈 25 mL,称定重量,超声提取 30 min(40 kHz, 250 W),冷却,再次称定重量,用乙腈补足失重,摇匀,滤过,取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

1.8.3 混合对照品溶液制备

精密称取 23-AB 对照品 2.20 mg、23-AC 对照品 2.60 mg、24-AA 对照品 1.60 mg、AB 对照品 3.00 mg,分别置于 10 mL 容量瓶中,加乙腈超声溶解、定容,得到各对照品贮备液。精密吸取各对照品贮备液 1 mL,置于 10 mL 容量瓶中,加入乙腈定容,摇

匀,得到每 1 mL 含有 23-AB 22.0 μg , 23-AC 26.0 μg , 24-AA 16.0 μg , AB 30.0 μg 的混合对照品溶液。

1.8.4 方法学考察

1.8.4.1 线性关系考察

精密量取“1.8.3”项下制备的混合对照品溶液分别梯度稀释为 6 个不同的质量浓度,按“1.8.1”项下色谱条件进样检测,记录峰面积。以各待测成分浓度 (X , $\mu\text{g}/\text{mL}$) 为横坐标,峰面积 (Y , $\text{mAU} \cdot \text{min}$) 为纵坐标进行线性回归,结果见表 2。

表 2 线性回归方程及相关系数

Table 2 Linear regression equation and correlation coefficient

成分 Component	线性回归方程 Linear regression equation	R^2	线性范围 Linear range ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
23-AB	$Y = 49.810X - 0.0080$	0.9993	1.1 ~ 22.0
23-AC	$Y = 63.432X - 0.0372$	0.9997	1.3 ~ 26.0
24-AA	$Y = 40.336X + 0.0225$	0.9996	0.8 ~ 16.0
AB	$Y = 58.019X - 0.0213$	0.9994	1.5 ~ 30.0

1.8.4.2 精密度实验

取“1.8.3”项下制备的混合对照品溶液,按“1.8.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录各待测成分的峰面积,计算 23-AB、23-AC、24-AA 和 AB 峰面积 RSD 分别为 2.93%、0.05%、0.71%、0.54%,表明仪器精密度良好。

1.8.4.3 重复性实验

取泽泻样品粉末(过四号筛)约 1.0 g,共 6 份,精密称定,按“1.8.2”项下方法制备供试品溶液,再按“1.8.1”项下色谱条件进样测定,计算各待测成分的质量分数均值分别为 1.845、0.170、1.616、2.158 mg/g , RSD 分别为 0.34%、1.30%、0.56%、0.37%,表明方法的重复性良好。

1.8.4.4 稳定性实验

取泽泻样品粉末(过四号筛)约 1.0 g,精密称

定,按“1.8.2”项下方法制备供试品溶液,按“1.8.1”项下色谱条件分别于室温下放置 0、2、4、8、16、24 h 时进样测定,记录各待测成分的峰面积,计算 23-AB、23-AC、24-AA 和 AB 峰面积的 RSD 分别为 0.88%、1.20%、1.77%、1.23%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

1.8.4.5 加样回收率实验

取已知含量的泽泻样品粉末(T1,过四号筛),每份约 0.5 g,共 6 份,精密称定,分别加入等量的对照品,按“1.8.2”项下方法制备供试品溶液,按“1.8.1”项下色谱条件进样测定,记录各待测成分的峰面积并计算加样回收率及 RSD。结果 23-AB、23-AC、24-AA 和 AB 的平均加样回收率分别为 100.22%、98.04%、97.64%、98.43%, RSD 分别为 1.06%、2.38%、1.99%、0.67%。具体结果见表 3。

表 3 加样回收率测定结果 ($n = 6$)

Table 3 Determination results of sample recovery rate ($n = 6$)

成分 Component	称样量 Sample weight (mg)	样品含量 Sample content (mg)	加入量 Adding amount (mg)	检出量 Detection quantity (mg)	回收率 Recovery rate (%)	RSD (%)
23-AB	0.5000	0.923	0.921	1.858	100.22	1.06
	0.5000	0.923	0.920	1.845		
	0.5000	0.923	0.931	1.847		
	0.5000	0.923	0.933	1.852		
	0.5000	0.923	0.925	1.862		
	0.5000	0.923	0.929	1.845		
23-AC	0.5000	0.085	0.085	0.168	98.04	2.38
	0.5000	0.085	0.086	0.168		

续表 3 (Continued Tab. 3)

成分 Component	称样量 Sample weight (mg)	样品含量 Sample content (mg)	加入量 Adding amount (mg)	检出量 Detection quantity (mg)	回收率 Recovery rate (%)	RSD (%)
23-AC	0.500 0	0.085	0.084	0.171	97.64	1.99
	0.500 0	0.085	0.083	0.165		
	0.500 0	0.085	0.085	0.167		
	0.500 0	0.085	0.085	0.169		
24-AA	0.500 0	0.810	0.792	1.621	98.43	0.67
	0.500 0	0.811	0.801	1.582		
	0.500 0	0.811	0.821	1.599		
	0.500 0	0.811	0.807	1.605		
	0.500 0	0.811	0.803	1.596		
	0.500 0	0.811	0.799	1.581		
AB	0.500 0	1.081	1.083	2.155	98.43	0.67
	0.500 0	1.081	1.091	2.148		
	0.500 0	1.081	1.085	2.155		
	0.500 0	1.081	1.088	2.142		
	0.500 0	1.081	1.092	2.159		
	0.500 0	1.081	1.078	2.142		

2 结果与分析

2.1 响应面法优化工艺实验结果

响应面法实验设计和 17 个实验组的泽泻内在质量测定结果及相应 OD 值见表 4。

2.2 模型拟合及显著性分析

运用 Design-Expert 8.0.6 软件,将表 4 中各实验组指标成分的 OD 值数据进行多元回归拟合和二

项式分析^[14],建立泽泻趁鲜切制加工工艺 OD 值对水分含量(X_1)、切片厚度(X_2)、干燥温度(X_3)的二次回归模拟方程:

$$\text{OD} = 0.64 - 0.087X_1 + 0.085X_2 - 0.019X_3 + 5.000 \times 10^{-3} X_1X_2 + 0.020X_1X_3 + 0.022X_2X_3 - 0.26X_1^2 - 0.039X_2^2 - 0.14X_3^2$$

表 4 泽泻趁鲜切制工艺响应面法优化实验设计及实验结果 ($n=2$)

Table 4 Response surface methodology for optimizing experimental design and results of Alismatis Rhizoma of the fresh cutting process ($n=2$)

编号 No.	X_1 (%)	X_2 (mm)	X_3 (°C)	ASE (%)	ART (mg/g)	ARP (mg/g)	23-AB (mg/g)	23-AC (mg/g)	24-AA (mg/g)	AB (mg/g)	OD
T1	40	5	40	16.28	11.272	308.189	1.447	0.170	1.620	1.673	0.563 3
T2	50	5	50	16.10	9.083	301.456	0.949	0.116	1.279	1.156	0.334 4
T3	40	4	50	17.47	11.928	312.671	1.144	0.119	1.578	1.601	0.617 0
T4	30	3	50	16.39	10.821	300.356	1.111	0.077	1.019	1.333	0.361 4
T5	40	4	50	17.85	11.179	316.370	1.022	0.110	1.685	1.566	0.648 0
T6	50	3	50	16.09	10.547	297.787	0.714	0.028	0.759	0.512	0.170 2
T7	30	4	60	16.79	12.069	297.510	0.928	0.044	0.719	1.030	0.298 8
T8	30	4	40	16.16	11.243	295.027	0.934	0.451	0.715	0.979	0.361 6
T9	50	4	40	16.19	9.291	312.288	0.271	0.015	0.415	0.274	0.153 7

续表 4(Continued Tab. 4)

编号 No.	X_1 (%)	X_2 (mm)	X_3 ($^{\circ}$ C)	ASE (%)	ART (mg/g)	ARP (mg/g)	23-AB (mg/g)	23-AC (mg/g)	24-AA (mg/g)	AB (mg/g)	OD
T10	40	3	40	17.05	10.190	294.941	1.147	0.188	1.238	1.599	0.423 6
T11	40	4	50	17.27	11.577	308.349	1.538	0.160	1.703	2.031	0.675 6
T12	40	3	60	15.64	9.669	301.326	1.173	0.079	1.202	1.277	0.326 3
T13	40	4	50	17.00	12.497	304.958	1.492	0.168	1.959	1.867	0.653 9
T14	50	4	60	16.35	9.464	297.401	0.538	0.049	0.793	0.629	0.171 7
T15	40	4	50	16.43	9.860	313.119	1.466	0.176	1.736	1.790	0.614 1
T16	30	5	50	16.97	11.371	307.711	1.174	0.080	1.329	1.513	0.505 6
T17	40	5	60	17.30	9.819	303.974	1.263	0.081	1.752	1.766	0.554 4

回归模型的方差分析结果见表 5。由表 5 可知:拟合模型 $P < 0.000 1$, 说明模型高度显著;失拟项 F 值为 $0.500, P = 0.704 9 > 0.05$, 无显著性差异, 说明模型拟合良好, 预测值与实验结果相吻合。调整系数 $R_{adj}^2 = 0.983 7$, 变异系数(CV)为 5.27% , 即该模型可解释 98.37% 响应值的变化, 模型拟合度较高, 说明此模型可对不同条件下泽泻趁鲜切制工艺进行预测。

响应面实验结果见图 3。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, 等高线的形状能够反映交互作用的强弱^[15,16], 其中, 椭圆表示两因素交互作用较强, 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 中, X_1X_2 、 X_2X_3 的等高线为椭圆, 说明水分含量与切片厚度, 切片厚度与干燥温度间的交互作用均明显。

表 5 方差分析结果
Table 5 ANOVA results

方差来源 Source of variance	偏差平方和 Deviation sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean Square	F	P	显著性 Significance
模型 Model	0.520	9	0.058	108.480	<0.000 1	**
X_1	0.061	1	0.061	114.540	<0.000 1	**
X_2	0.057	1	0.057	107.670	<0.000 1	**
X_3	2.849×10^{-3}	1	2.849×10^{-3}	5.370	0.053 7	-
X_1X_2	1.000×10^{-4}	1	1.000×10^{-4}	0.190	0.677 3	-
X_1X_3	1.634×10^{-3}	1	1.634×10^{-3}	3.080	0.122 8	-
X_2X_3	1.954×10^{-3}	1	1.954×10^{-3}	3.680	0.096 6	-
X_1^2	0.280	1	0.280	534.680	<0.000 1	**
X_2^2	6.463×10^{-3}	1	6.463×10^{-3}	12.180	0.010 1	*
X_3^2	0.077	1	0.077	145.920	<0.000 1	**
残差 Residual	3.716×10^{-3}	7	5.309×10^{-4}	-	-	-
失拟项 Lack of fit	1.006×10^{-3}	3	3.355×10^{-4}	0.500	0.704 9	-
误差 Error	2.710×10^{-3}	4	6.774×10^{-4}	-	-	-
总离差 Cor total	0.520	16	-	-	-	-

注: * 差异显著($P < 0.05$); ** 差异极显著($P < 0.01$)。

Note: * Significant difference ($P < 0.05$); ** Highly significant difference ($P < 0.01$).

2.3 最优趁鲜切制工艺的确定

以 OD 值最高为目标, 根据 Design Expert 8.0.6 实验设计软件得泽泻趁鲜切制加工最佳工艺参数

为:水分含量 37.01% , 切制厚度 4.50 mm, 干燥温度 49.36 $^{\circ}$ C, 预测 OD 值为 $0.676 8$ 。结合实际生产需要, 将最佳工艺参数调整确定为:水分含量 40% ,

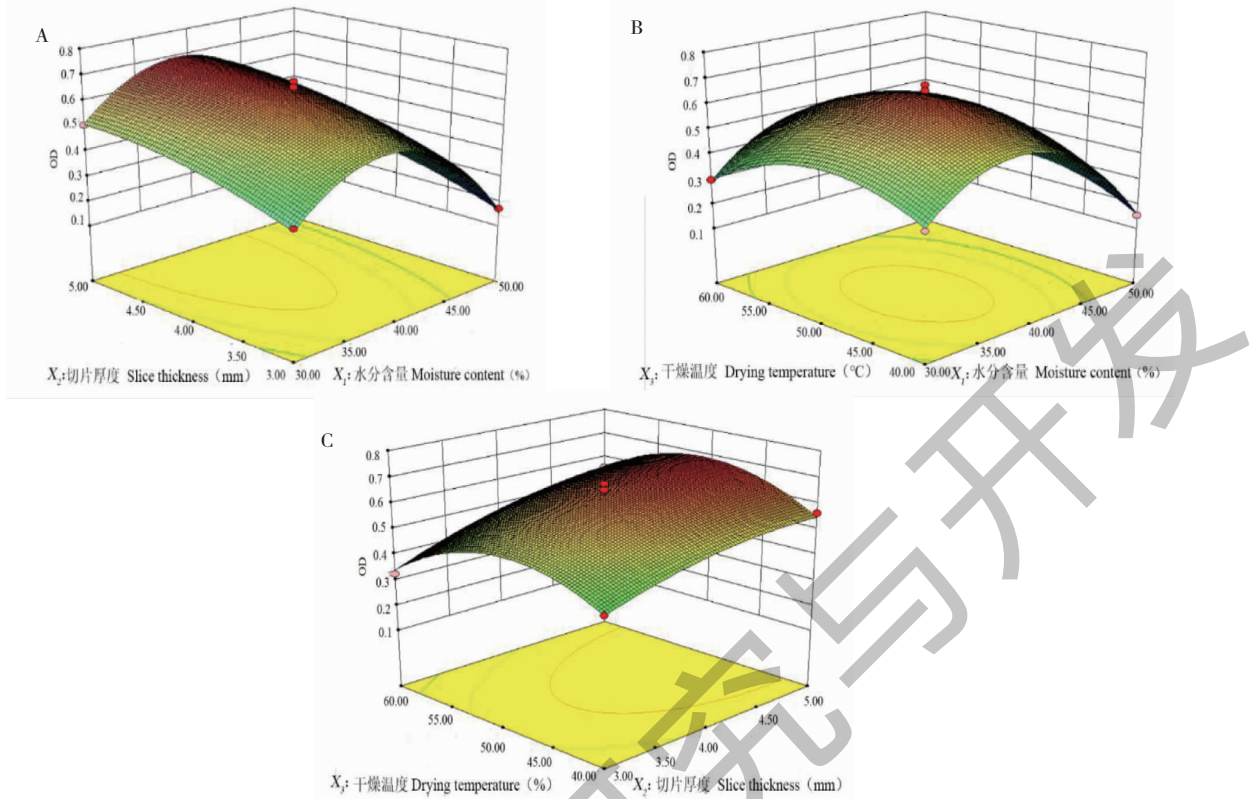


图3 各因素交互作用的响应面图

Fig. 3 Response surface diagram of the interaction of various factors

切片厚度 4 mm,干燥温度 50 °C。

2.4 验证实验与工艺比较

按照响应面法优选得到的趁鲜切制工艺即水分含量 40%,切片厚度 4 mm,干燥温度 50 °C 制备泽泻趁鲜切片(FP),与传统工艺加工的泽泻片(TP)进行内在质量比较,结果见表 6。结果显示泽

泻趁鲜切片平均 OD 值为 0.667 8,与预测 OD 值 0.676 8 偏差为 0.013 (RSD 为 2.00%),可见,采用响应面优选出的泽泻最佳趁鲜切制工艺具有可靠性与稳定性。同时趁鲜切制加工组泽泻片 OD 值高于传统加工组泽泻饮片,说明从内在质量角度,该泽泻趁鲜切片优于传统加工泽泻片。

表 6 响应面法验证实验 ($n = 2$)Table 6 Response surface methodology validation experiments ($n = 2$)

编号 No.	ASE (%)	ART (mg/g)	ARP (mg/g)	23-AB (mg/g)	23-AC (mg/g)	24-AA (mg/g)	AB (mg/g)	OD
FP-1	17.440	11.037	303.923	1.453	0.146	1.554	1.676	0.653 6
FP-2	17.290	11.094	306.475	1.483	0.149	1.546	1.638	0.664 0
FP-3	17.610	11.676	302.991	1.453	0.143	1.555	1.694	0.685 6
均值 Mean value	17.447	11.269	304.463	1.463	0.146	1.552	1.669	0.667 8
RSD (%)	0.75	2.56	0.48	1.03	1.68	0.26	1.40	2.00
TP-1	16.380	10.645	298.193	1.309	0.125	1.506	1.339	0.475 5
TP-2	16.440	10.341	297.274	1.316	0.126	1.596	1.247	0.462 5
TP-3	16.480	10.472	301.604	1.340	0.122	1.502	1.337	0.499 4
均值 Mean value	16.433	10.486	299.024	1.322	0.124	1.535	1.308	0.479 1
RSD (%)	0.25	1.19	0.62	1.00	1.37	2.83	3.28	3.19

3 结论与讨论

产地加工和饮片加工直接影响中药质量,并进一步影响中成药生产和临床应用。就目前川泽泻药材产地加工而言,虽每年产量占全国泽泻药材 80% 以上,但却存在加工场地分散、规模小、机械化、规范化程度低等诸多问题,泽泻短时间内大规模加工需求与传统效能有限的作坊式加工模式产生极大矛盾,导致川泽泻质量参差不齐,影响临床用药^[17]。因此课题组前期初步开展了泽泻趁鲜切制加工的可行性研究。通过研究发现:与传统切制的饮片质量相比较,泽泻趁鲜切制片质量具有一致性,且在某些指标上质量更优:性状上,泽泻趁鲜切制药材横切面较传统切制饮片颜色更白,切片更均匀,翘片、碎片等败片率更低;从药用物质基础来看,ASE、23-AB 和 23-AC 等药典质控指标的含均高于传统加工饮片,且更为稳定,此结果在本文“2.4 验证实验与工艺比较研究”中也再次得到验证。同时,根据课题组前期实地调研与分析,泽泻趁鲜切制加工工艺相比传统药材及饮片加工,不仅减少了传统工艺的二次浸润和干燥环节,省时省力,还可引入现代自动化加工设备进行规模化生产,有效降低燃料和人力成本,提高生产效能^[17]。泽泻趁鲜切制加工还可进一步实现集约化、标准化生产,也为建立泽泻药材溯源系统,保障泽泻药材及饮片质量稳定性提供了有利条件,更加符合我国中药全产业链高质量发展需求。而且,泽泻属于大宗药材品种、四川著名道地药材,每年 80% 以上的产量均集中在四川眉山市、乐山市等岷江流域,产地集中性也已经为泽泻发展规模化趁鲜切制加工产业提供了强有力的先天条件。综上,从提高泽泻产品质量、简化生产工艺、降低生产成本、发展集约化、标准化、规模化加工产业,建立泽泻质量溯源系统等综合分析,泽泻趁鲜切制加工具有可行性,应大力发展。

值得注意的是,干燥过程中,物料会随着水分的脱除,因细胞失去水分的填充、支撑作用,宏观上表现为材料的体积缩小、表面皱缩等^[18]。但不同物料,因自身性质以及多种影响因素,其结构变化差异较大。故为保证不同水分含量的泽泻样品进入优化试验时具有较为一致的初始状态,基于前期预实验观测结果,将样品干燥预处理在 40 ℃ 低温条件下进行。在该温度条件下干燥的泽泻块茎细胞失水缓

慢,结构上整体变化缓慢,短时间内未出现明显变化。同时,单因素实验结果表明水分含量为 30% ~ 50% 的泽泻块茎从外观和结构上整体较为均一,故将优化试验的泽泻块茎水分含量考察范围定为 30% ~ 50%。因为当水分含量为 60% 时,切面有白色汁液渗出;当水分含量为 20% 时,外表面较硬,不易切片,易产生缺口、碎屑。

干燥温度影响材料水分蒸发速率,干燥温度越高,水分蒸发速度越快,干燥总时间越短。切片厚度薄,材料内部的水分在干燥过程中向外扩散速率快,干燥总时间短;而切片厚度厚,材料内部的水分在干燥过程中向外扩散速率较慢,导致干燥时间延长^[19-21]。本研究中,当泽泻块茎水分含量 40%、切片厚度 4 mm,干燥温度 40、50、60 ℃ 时加工总耗时分别为 20 ~ 22、10 ~ 12、7 ~ 8 h,即随着干燥温度升高,加工时长缩短,但同时泽泻切片的断面颜色逐渐加深;当泽泻块茎水分含量 40%、干燥温度 50 ℃,切片厚度 3、4、5 mm 时,加工总耗时分别为 7 ~ 8、10 ~ 12、18 ~ 20 h,即随着切片厚度增加,加工时长延长。前期单因素预实验结果表明,当切片厚度为 2 mm 时,干燥耗时极短,为 3 ~ 4 h,但翘片、碎片等现象严重;当切片厚度为 6 mm 时,不仅干燥耗时长(30 ~ 32 h),且干燥后的厚度超过《中国药典》标准(4 mm)。

据现代研究^[22,23],80 ℃ 及以上高温干燥的泽泻药材,药效成分 23-AB、23-AC 的含量比 60 ℃ 及以下低温条件下干燥的药材明显降低,推测在高温干燥过程中,23-AB 存在两条转化途径,一是氧化开环生成 23-乙酰泽泻醇 A(alisol A 23-acetate, 23-AA),再结构重排生成 24-AA,进一步脱乙酰基生成泽泻醇 A(alisol A, AA);二是先脱乙酰基生成 AB,再连同原泽泻中的 AB 氧化开环转化成 AA。23-AC 结构与之类似,可能存在相同的转化途径。故泽泻药材传统产地加工作坊生产的泽泻药材质量参差不齐,推测与加工温度的不规范控制导致其药效成分发生转化而降低密切相关。因为根据前期调研,某些作坊主要为人为操作,为了控制加工时长、减少成本而迫使干燥温度过高。而泽泻趁鲜切制工艺通过科学实验优选验证,以科学的干燥预处理,适宜的水分含量、切片厚度和加工温度的工艺参数组合有效地解决了此问题。

故本文基于前期研究基础,进一步采用响应面法结合总评归一法开展泽泻趁鲜切制加工工艺优化研究。通过单因素实验以泽泻外观性状和工艺能耗为评价指标确定了影响泽泻趁鲜切制加工工艺因素的中心点,其中鲜泽泻水分含量为40%,切片厚度为4 mm,干燥温度为50℃。在此基础上,以泽泻内在质量评价标的OD作为响应面法的响应值,通过Design Expert 8.0.6软件分析,得到拟合度好,极显著的多次二项回归模型。通过方差分析和响应面结果,表明所优选的工艺方法可靠。最终得到泽泻趁鲜切制加工工艺为水分含量37.01%,切制厚度4.50 mm,干燥温度49.36℃,并结合实际工业化生产需求,确定泽泻趁鲜切制加工最佳工艺为:水分含量40%时,切片厚度4 mm,干燥温度50℃。为验证该趁鲜切制加工工艺的可靠性,本文按优选的最佳趁鲜切制加工工艺做了3组重复实验,结果证明该工艺稳定、可靠;优选的泽泻趁鲜切制加工工艺,前期通过40℃的低温预干燥,切片后采用50℃干燥10~12 h即可将泽泻片干燥至水分含量低于12.0%,避免了传统加工过程中的高温、长时间干燥,最大程度上减少了三萜类成分的转化,保留了有效成分。因此与传统加工饮片相比较,泽泻趁鲜切制药材的内在质量更优。该泽泻趁鲜切制加工工艺将为我国泽泻药材及饮片加工产业尽快实现全产业链规范化、规模化高质量发展提供了科学方法,奠定了扎实的技术基础。

参考文献

- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典)[M]. Beijing:China Medical Science Press,2020:239-240.
- Liu CX,Chen SL,Xiao XH,et al. A new concept on quality marker of Chinese materia medica: Quality control for Chinese medicinal products[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2016,47:1443-1457.
- Lu TT,Li HH,Zhou YJ,et al. Neuroprotective effects of alisol A 24-acetate on cerebral ischaemia-reperfusion injury are mediated by regulating the PI3K/AKT pathway[J]. J Neuroinflamm,2022,19:37-51.
- Zhao ZH,Deng ZT,Huang SL,et al. Alisol B alleviates hepatocyte lipid accumulation and lipotoxicity via regulating RAR α -PPAR γ -CD36 cascade and attenuates non-alcoholic steatohepatitis in mice[J]. Nutrients,2022,14:2411-2421.
- Qian ZK,Cui F,Ling YX,et al. Effect of Alismatis Rhizoma polysaccharide on glucose-lipid metabolism in diabetic rats[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2018,24:117-125.
- Cheng ST,Sun XY,Wang ZT,et al. Multi index optimization of black pepper extraction process by Box-Behnken response surface method based on fingerprint combined with BP neural network[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:1481-1492.
- Zhu YH,Fan ZY,Han Y,et al. Optimization of sulfation conditions of dandelion root polysaccharide and its protective effect on oxidative damage of human HepaRG cells[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2021,33:2082-2089.
- Tian JH,Zhang CY,Wei L. Study on the extraction technology and antioxidant activity of total flavonoids from the pomace of sea buckthorn[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2021,33:65-72.
- Guo KL,Liu JP,Zhao CB,et al. Enzymatic-ultrasonic assisted extraction of total flavonoids from Shaanxi *Polygonatum sibiricum* and *in vitro* evaluation of their anti-oxidant and anti-A549 proliferation activities[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:630-638.
- Zhen KM,Su Q,Yan ZH,et al. Optimization of extraction of flavonoids from *Prunus cerasifera* leaves using response surface methodology and determination of optimum harvest month[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2020,32:1379-1388.
- Chong YM,Li Q,Yang ZZ,et al. Optimization of hot air drying technology of cultivated *Fritillaria cirrhosa* D. Don by response surface methodology[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2023,35:95-107.
- Li JJ,Gan JJ,Mo L,et al. Effects of drying methods on triterpenoids content and molluscicidal activity of *Eucalyptus urophylla* \times *Eucalyptus grandis* bark extracts[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2019,31:1641-1646.
- Luo DH,Zhang ZT. Extraction optimization, structure characterization and anti-inflammatory activity of polysaccharides from *Sparassis subalpina*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:1110-1118.
- Wang LH,Ying ZX,Sun BB,et al. Optimization of processing technology of honey wheat bran based on Box-Behnken response surface methodology[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2021,52:3538-3543.

- 15 Ou YJ, Jin JH, Wang HL. Optimization of cellulase-assisted extraction process of proanthocyanidins from *Hippophae rhamnoides* seed meal using response surface methodology[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2015, 27:1589-1594.
- 16 Yang ZC, Sun CH, E XH, et al. Astragali Radix honey roasting process optimization based on response surface and weighted score [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2021, 52:2247-2256.
- 17 Lin L, Yang JY, Liu XF, et al. Investigation and analysis on the current situation of harvesting and processing of Sichuan famous-region herbs *Alismatis Rhizoma* [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2023, 38:626-629.
- 18 Xie H, Qi YR, Wan N, et al. Shrinkage mechanism, influencing factors and control strategies in drying process of Chinese medicinal materials[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2022, 53:2872-2881.
- 19 Lou Z, Liu Q, Shi JF, et al. Study on shrinkage characteristics of jujube gas jet[J]. Trans Chin Soc Agric Mach(农业机械学报), 2014, 45:S241-S246.
- 20 Aral S, Bese AV. Convective drying of hawthorn fruit (*Crataegus* spp.): Effect of experimental parameters on drying kinetics, color, shrinkage, and rehydration capacity [J]. Food Chem, 2016, 210:577-584.
- 21 Xu L, Fang XJ, Wu WJ, et al. Effects of high-temperature pre-drying on the quality of air-dried shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) [J]. Food Chem, 2019, 285:406-413.
- 22 Wang YQ, Lin Y, Tai YN, et al. Effects of baking temperature on the properties, extracts and components contents of *Alismatis Rhizoma* during processing[J]. J Chin Med Mat(中药材), 2022, 45:2851-2856.
- 23 Lin J, Zhou X, Zhang M, et al. Effects of different drying methods on chemical constituents of *Alismatis Rhizoma* from Sichuan[J]. J Chin Med Mater(中药材), 2022, 45:2597-2602.