

# 星点设计-效应面法优化姜炭炮制工艺

孟江\*, 许舒娅, 卢国勇, 廖华卫, 梁慧超, 林志豪  
(广东药学院中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的:采用星点设计-效应面法优化姜炭的炮制工艺。方法:采用砂烫法以炮制温度、药材厚度、炮制时间为自变量,吸附力、鞣质含量、6-姜辣素含量和 6-姜烯酚含量的总评“归一值”为评价指标,对自变量各水平进行多元线性回归和二项式拟合,用效应面法筛选最佳炮制工艺,并进行预测分析。结果:二项式拟合复合相关系数较高,总评“归一值”为 0.870,最佳炮制工艺为炮制温度 310 ℃,药材厚度 0.55 cm,炮制时间 15.5 min。最佳工艺验证结果与二项式拟合方程预测值偏差为 -2.59%。结论:利用星点设计-效应面法优化姜炭提取工艺,方法简便,预测性良好。

**[关键词]** 姜炭; 炮制工艺; 星点设计-效应面法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)02-0008-04

## Optimization of Processing Technology of Ginger Carbon by Central Composite Design/Response Surface Methodology

MENG Jiang\*, XU Shu-ya, LU Guo-yong, LIAO Hua-wei, LIANG Hui-chao, LIN Zhi-Hao  
(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize processing technology of ginger carbon by central composite design/response surface methodology. **Method:** Sand-scorch processing technology was adopted with processing temperature, medicine thickness, processing time as independent variables, and absorption power, the contents of tannins, 6-gingerol and 6-shogaol as evaluation indexes, levels of independent were regressed by multiple linear and fitted by binomial, response surface methodology was used to select optimum processing technology, and predictive analyzed. **Result:** Complex correlation coefficient of binomial fitting was high, and overall ‘normalized value’ was 0.870. Optimal processing technology were: processing temperature 310 ℃, medicine thickness 0.55 cm, processing time 15.5 min. Deviation between result of optimum craft verification test and binomial fitting equation forecast value was -2.59%. **Conclusion:** Central composite design/response surface method could be used to optimize extraction technology of ginger carbon, and it was simple, had good prediction.

**[Key words]** ginger carbon; processing technology; central composite design/response surface methodology

姜炭为姜科植物姜 *Zingiber officinale* (Willd) Rosc. 的干燥根茎的炮制品,长于温经止血,多用于虚寒性吐血、便血、崩漏等症,是临床治疗虚寒性出血症的经典温经止血药<sup>[1]</sup>。目前姜炭没有严格的

规范化炮制工艺要求,导致姜炭炮制品的内在质量差异较大。本文采用砂烫法以吸附力、鞣质含量、6-姜辣素、6-姜烯酚的含量为指标,优选姜炭的炮制工艺,完善提高姜炭的质量标准,为姜炭“炒炭存性”提供科学的依据。

星点设计方法具有精度高、预测性好、简便等优点<sup>[2]</sup>。本实验引入星点设计-效应面法优选姜炭的炮制工艺,为该法应用于中药炮制工艺的可行性提供依据。

### 1 材料

UV-2450 型紫外分光光度计(日本岛津), DS-

**[收稿日期]** 20110914(013)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81102809);广东省高等学校大学生创新实验项目(1057310022)

**[通讯作者]** \*孟江,博士,副教授,从事中药炮制及饮片质量标准化研究, Tel: 020-39352169, E-mail: jiangmeng666@126.com

8510型超声波清洗器(上海生析超声仪器有限公司),AY120型电子分析天平(日本岛津公司),LC-20A型高效液相色谱仪(日本岛津公司)。

干姜药材购自广州市药材公司中药饮片厂,经广东药学院中药鉴定教研室程轩轩讲师鉴定为姜科植物姜 *Z. officinale*. 的干燥根茎。亚甲基蓝(天津市科密欧化学试剂开发中心),没食子酸对照品(天津市百世化工有限公司,批号分别为2009626),6-姜辣素、6-姜烯酚对照品(南京郎泽医药科技有限公司,批号分别为20110408,20110212),其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 吸附力测定方法<sup>[3]</sup>

**2.1.1 亚甲基蓝中水分的测定** 取亚甲基蓝约0.5 g,精密称定,置于已在105℃干燥至恒重的蒸发皿中,于105℃干燥4 h后,测定其水分。结果表明亚甲基蓝含水量为2.38%。

**2.1.2 亚甲基蓝标准曲线绘制** 称取亚甲基蓝0.16 g置100 mL量瓶中,精密称定,加pH 7的磷酸缓冲液溶解并稀释至刻度,精密吸取1.5 mL置100 mL量瓶中,加pH 7的磷酸缓冲溶液稀释至刻度,制成0.023 8 g·L<sup>-1</sup>的亚甲基蓝标准溶液。精密量取亚甲基蓝标准溶液0,0.5,1,2,3,4,5 mL,分别置25 mL量瓶中,加pH 7的磷酸盐缓冲溶液稀释至刻度,摇匀。在665 nm处测定吸光度,计算得回归方程 $Y=7.80X+0.01$  ( $r=0.9993$ ),亚甲基蓝在0~0.118 9 mg线性关系良好。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 将干姜各炮制品分别过80目和100目筛,取80目下,100目上的干姜各炮制品粉末约0.1 g,精密称定,置100 mL具塞锥形瓶中,精密量取0.031 7 g·L<sup>-1</sup>的亚甲基蓝溶液25 mL,置恒温振荡器上(25℃,150 r·min<sup>-1</sup>),振荡1 h,滤过,即得。

**2.1.4 精密度、重复性、稳定性、加样回收率试验** 取同一对照品溶液,连续测定6次,考察精密度。另取同批药材6份,精密称定,按2.1.3项下方法制备供试品溶液,测定,考察重复性;将供试品溶液分别在0,20,40,60,80,100 min测定,考察供试品溶液的稳定性。取姜炭样品(过80目)0.05 g,共6份,精密称定,置100 mL具塞锥形瓶中,每份均精密加入亚甲基蓝0.985 g·L<sup>-1</sup>的溶液0.45 mL,制备供试品溶液,测定,考察加样回收率。结果表明:精密度、重复性、稳定性RSD为0.10%,0.62%,0.10%,平均回收率为100.21%,RSD 2.98%,表明该方法

可行。

### 2.2 鞣质含量测定<sup>[1]</sup>

**2.2.1 没食子酸标准曲线绘制** 取没食子酸50 mg,精密称定,置100 mL的棕色量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,精密量取10 mL,置100 mL棕色量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,得0.0511 g·L<sup>-1</sup>的没食子酸对照品溶液。精密量取对照品溶液0,0.1,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL分别置于25 mL棕色量瓶中,各加入磷钼钨酸溶液1 mL,再分别加水12,11.9,11.5,11,10,9,8,7 mL,用29%碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀,放置30 min,在760 nm处测定吸光度,计算回归方程为 $Y=87.42X+0.05$  ( $r=0.9998$ ),没食子酸在0.000 2~0.010 2 g·L<sup>-1</sup>呈良好的线性关系。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取干姜各炮制品粉末1 g,精密称定,置100 mL棕色量瓶中,加80 mL水放置过夜,超声处理10 min,放冷,用水稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液40 mL,置100 mL棕色量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即可。

**2.2.3 精密度、重复性、稳定性、加样回收率** 精密量取对照品溶液3.0 mL,依法显色,连续测定6次,考察精密度。另取同批姜炭粉末6份,精密称定,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,依法显色测定,考察重复性;将供试品溶液,显色后每隔10 min测定其吸光度,考察稳定性。取姜炭样品粉末0.5 g,共6份,精密称定,每份各加入0.511 1 g·L<sup>-1</sup>的没食子酸对照品溶液2.8 mL,制备供试品溶液并依法显色测定。结果表明:精密度、重复性、稳定性RSD分别为0.60%,2.57%,0.68%,鞣质平均回收率为99.71%,RSD 2.91%,表明该方法可行。

### 2.3 6-姜辣素和6-姜烯酚含量测定

**2.3.1 色谱条件** Ultimate<sup>TM</sup> XB-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(70:30),检测波长230 nm,流速0.6 mL·min<sup>-1</sup>,柱温40℃。

**2.3.2 标准曲线的绘制** 取6-姜辣素及6-姜烯酚对照品适量,精密称定,以甲醇溶解配制成1.0 g·L<sup>-1</sup>6-姜辣素和2 g·L<sup>-1</sup>6-姜烯酚的对照品溶液。精密量取对照品溶液适量按倍数关系稀释成6种不同质量浓度的溶液。按照优选的色谱条件分别进样20 μL分析,以峰面积和进样质量进行线性回归,得6-姜辣素及6-姜烯酚线性方程分别为 $Y=48\ 632.7X-57\ 753.4$  ( $r=0.9997$ ), $Y=153\ 849.2X-27\ 830.6$  ( $r=0.9991$ ),线性范围分别为1~200 μg和1~400 μg。

**2.3.3 供试品溶液制备** 取干姜各炮制品粉末(过 60 目筛) 0.5 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,精密加入甲醇 5 mL,超声处理 40 min,放至室温,用甲醇补重,摇匀,过 0.45 μm 滤头,收集续滤液,4 ℃ 冰箱保存备用。

**2.3.4 精密度、重复性、稳定性、加样回收率** 取同一对照品溶液连续进样 6 次,考察精密度。取同批姜炭粉末样品,按 2.3.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,分别测定,考察重复性;将供试品溶液分别于 0,2,4,8,12,24 h 进样分析,考察稳定性。取已知含量的姜炭药材粉末 0.25 g(约含有 6-姜辣素 25 μg 及 6-姜烯酚 71 μg),共 6 份,精密称定,加入一定量的 6-姜辣素和 6-姜烯酚对照品,按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液,进样测定,考察加样回收率。结果表明:6-姜辣素及 6-姜烯酚的精密度、重复性、稳定性峰面积 RSD 分别为 0.90%,2.27%;1.75%,2.27%;1.33%,1.11%;6-姜辣素的平均回收率为 101.9%,RSD 2.93%;6-姜烯酚的平均回收率为 103.9%,RSD 0.93%,表明该方法可行。

**2.4 星点设计优化姜炭炮制工艺**

**2.4.1 试验设计与结果** 根据预试验结果,选择炮

制温度( $X_1$ )、药材厚度( $X_2$ )和炮制时间( $X_3$ )为自变量,每个自变量水平的安排遵循任意 2 个物理量之间的差值与对应代码之间差值成等比的原则。因素水平见表 1,星点实验设计见表 2。按照星点实验设计表所示条件对采用砂烫法对干姜进行炮制,用温度计测定流动砂子温度来控制炮制温度,得到不同炮制程度的姜炭。

表 1 姜炭炮制工艺星点设计因素水平

| 水平     | $X_1$ 炮制温度<br>/ ℃ | $X_2$ 药材厚度<br>/ cm | $X_3$ 炮制时间<br>/ min |
|--------|-------------------|--------------------|---------------------|
| -1.732 | 280               | 0.20               | 10                  |
| -1     | 290.57            | 0.28               | 12.11               |
| 0      | 305               | 0.40               | 15                  |
| 1      | 319.44            | 0.52               | 17.89               |
| 1.732  | 330               | 0.60               | 20                  |

以炭素吸附力、鞣质、6-姜辣素和 6-姜烯酚的含量为指标,每个指标均标准化为 0~1 之间的“归一值(OD)”,各指标 OD 按下式计算几何平均数,得总评 OD:总评 OD =  $(d_1 d_2 \cdots d_k)^{1/k}$  ( $k$  为指标数)。星点实验结果见表 2。

表 2 姜炭炮制工艺星点设计

| No.   | $X_1$  | $X_2$ | $X_3$ | 吸附力<br>/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ | 鞣质<br>/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ | 6-姜辣素<br>/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ | 6-姜烯酚<br>/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ | 总评 OD   |
|-------|--------|-------|-------|--|---|--|--|---------|
| 1     | 290.57 | 0.28  | 12.11 | 0.465 4                                  | 0.704                                   | 0.359 2                                      | 0.704 2                                      | 0.536 5 |
| 2     | 319.44 | 0.28  | 12.11 | 0.863 5                                  | 0.032 9                                 | 0.526 6                                      | 0.478 6                                      | 0.290 9 |
| 3     | 290.57 | 0.52  | 12.11 | 0.265 4                                  | 0.68                                    | 0.608 8                                      | 0.748 1                                      | 0.535 4 |
| 4     | 319.44 | 0.52  | 12.11 | 0.584 6                                  | 0.187 1                                 | 0.483 3                                      | 0.496 6                                      | 0.402 5 |
| 5     | 290.57 | 0.28  | 17.89 | 0.657 7                                  | 0.681 2                                 | 0.335 7                                      | 0.546 1                                      | 0.535 3 |
| 6     | 319.44 | 0.28  | 17.89 | 1.000 0                                  | 0.000 0                                 | 0.149 2                                      | 0.132 5                                      | 0.000 0 |
| 7     | 290.57 | 0.52  | 17.89 | 0.563 5                                  | 0.406 2                                 | 0.357 7                                      | 0.395  | 0.424 1 |
| 8     | 319.44 | 0.52  | 17.89 | 0.940 4                                  | 0.275 1                                 | 0.209 8                                      | 0.138 6                                      | 0.294 5 |
| 9     | 280    | 0.4   | 15    | 0.355 8                                  | 0.428 3                                 | 0.28   | 0.678 3                                      | 0.453 1 |
| 10    | 330    | 0.4   | 15    | 0.455 8                                  | 0.022 2                                 | 0.000 0                                      | 0.000 0                                      | 0.000 0 |
| 11    | 305    | 0.2   | 15    | 0.661 5                                  | 0.472 6                                 | 0.374 4                                      | 0.562 1                                      | 0.506 5 |
| 12    | 305    | 0.6   | 15    | 0.532 7                                  | 1.000 6                                 | 0.355 5                                      | 0.534 7                                      | 0.564 2 |
| 13    | 305    | 0.4   | 10    | 0.000 0                                  | 0.450 8                                 | 1.000 0                                      | 1.000 0                                      | 0.000 0 |
| 14    | 305    | 0.4   | 20    | 0.984 6                                  | 0.032 9                                 | 0.163 4                                      | 0.130 7                                      | 0.162 2 |
| 15~20 | 305    | 0.4   | 15    | 0.582 7                                  | 0.544 3                                 | 0.416 4                                      | 0.538 6                                      | 0.516 4 |

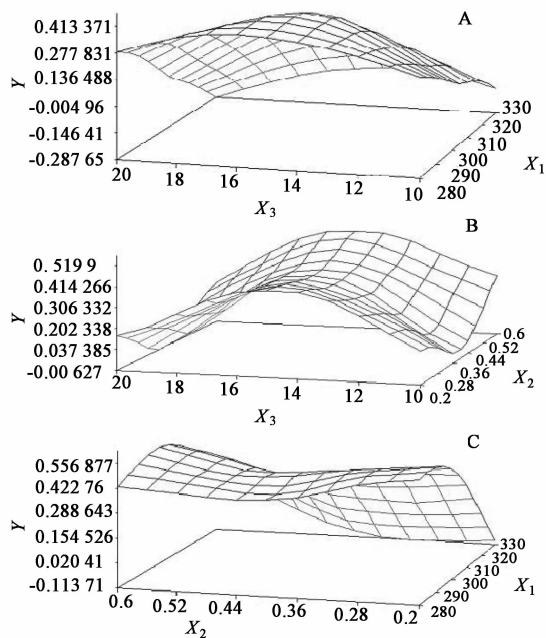
**2.4.2 模型拟合** 根据结果,用 SAS 9.0 统计数据,以总评 OD 值为因变量对各因素进行多元线性回归和二项式方程拟合,模型的好坏通过相关系数( $r$ )进行判断。拟合后所得多元线性拟合方程  $Y =$

$$3.097 - 0.001X_1 + 0.240X_2 - 0.006X_3 \quad (r = 0.402, 0.05 < P < 0.1),$$

$$\text{二项式拟合方程 } Y = -32.89 + 0.211X_1 - 13.27X_2 + 0.69X_3 - 0.00036X_1X_1 + 2.13X_2X_2 - 0.015X_3X_3 + 0.04X_1X_2 - 0.00086X_1X_3$$

+0.03X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>, ( $r = 0.870, 0.05 < P < 0.1$ )。多元线性回归拟合方程的相关系数较低,表示自变量与因变量之间线性相关性较差,所以不宜用线性模型。而多元二项式回归方程相关系数较高,拟合度高,预测性较好,故选择二项式拟合模型为最佳模型。

**2.4.3 效应面优化及预测性评价** 根据所拟合的二项式方程,应用 SAS 9.0 统计软件分别绘制各指标与影响较显著的 2 个自变量的三维效应面,从中筛选出较佳的工艺水平,结果见图 1。



A. Y 对 X<sub>1</sub>, X<sub>3</sub>; B. Y 对 X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>; C. Y 对 X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>

图 1 姜炭炮制工艺三维效应面

综合实际情况及运用 matlab 6.5 软件计算,姜炭砂烫法的最佳炮制工艺确定为炮制温度 310 ℃,药材厚度 0.55 cm,炮制时间 15.5 min。

按照优选的最佳炮制工艺条件重复 3 次实验,将预测值与实测值进行比较并计算偏差[偏差 = (预测值 - 实测值)/预测值 × 100%],结果平均值为 0.620 8,预测值为 0.637 3,预测值与实测值的偏

差为 -2.59% (<3%),证明所得到的拟合方程可以较好地预测姜炭炮制工艺中各因素与总评指标。

### 3 讨论

炭药具有止血作用是多方面的因素相互作用的结果。目前认为炭药炮制后部分炭化,生成炭素具有吸附作用,而且炭素含量与吸附力成正比,通过测定炭素吸附力间接反映炭药的止血作用<sup>[4]</sup>。鞣质通过促进血小板粘附和聚集,降低纤溶活性而促进凝血和止血<sup>[5]</sup>。故以炭素吸附力、鞣质为指标,同时结合 6-姜烯酚、6-姜辣素的含量多指标测定、多方面不同角度来优选姜炭的炮制工艺,能客观科学的保证姜炭的饮片质量和提高临床药效。

国内关于中药炮制工艺的优选多采用正交设计或均匀设计,但正交设计和均匀设计都是基于线性模型的设计,实验处理时只能指出某一因素的取值方向,无法求得极值,往往选择的条件均接近自变量的极大或极小值。最优条件下测得的效应值与用数学模型预测的值偏差大。星点设计-效应面法可进行非线性拟合,能提高数学模型的预测性,更好地体现各因素、指标与效应值的关系。实验结果显示优选炮制工艺的 OD 实测值与预测值吻合较好,说明该方法应用于中药炮制工艺研究有效、可行。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:14,附录 62.
- [2] 吴海健,王建新,黄建明,等.星点设计-效应面法优化拓树提取物片剂处方[J].复旦学报:医学版,2008,35(3):363.
- [3] 张丽,宋磊,郭戎,等.荆芥、荆芥穗及其炭制饮片吸附力的测定比较[J].江苏中医药,2007,39(11):73.
- [4] 梁生旺,崔永霞,王淑美,等.金银花炭的质量控制研究[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(3):10.
- [5] 包贝华,张丽,丁安伟.中药止血成分的研究进展[J].中草药,2009,40(8):1324.

[责任编辑 全燕]