DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20241121.001
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20241121.0921.002

基于熵权法结合响应面法优化海南砂仁盐炙工艺

程倩颖,练 勇,罗明权,周小妹,张 迎,孔奕丹✉,魏 娜✉
(海南医科大学药学院,海南 海口 571199)

[摘要] **目的**:筛选海南砂仁最优盐炙工艺。**方法**:以两个指标成分[3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮]的质量分数和多糖提取率为评价指标,采用熵权法确定各评价指标的权重系数,结合单因素试验结果,应用Box-Behnken响应面法考察水盐比例、炒制瓦数和炒制时间对海南砂仁盐炙效果的影响,筛选出海南砂仁最佳盐炙工艺参数。**结果**:海南砂仁最优盐炙工艺参数为:每50 g海南砂仁,水盐比例20∶1(mL/g)、闷润时间4 h、炒制时间25 min、炒制瓦数300 W;通过所得工艺参数,平行制备三批盐炙海南砂仁样品,计算得综合评分分别为94.86、92.21、93.18,RSD=1.44%。**结论**:筛选得到的海南砂仁盐炙工艺稳定可行,可为海南砂仁的盐炙工艺研究及炮制品的质量控制提供参考和借鉴。

[关键词] 海南砂仁;炮制工艺;响应面法;熵权法
[中图分类号] R283 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2025)18-1370-09

To optimize the salt process of *Amomum longiligulare* T.L.Wu based on entropy weight method combined with response surface method

CHENG Qianying, LIAN Yong, LUO Mingquan, ZHOU Xiaomei, ZHANG Ying, KONG Yidan✉, WEI Na✉
(*School of Pharmaceutical Sciences, Hainan Medical University, Haikou* 571199, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the Natural Science Foundation Project of Hainan Province* (821*RC*743); *Graduate Innovative Research Project of Hainan Medical University* (*HYYB*2022*A*48, *HYYS*2022*B*15)
[*Author*]: *CHENG Qianying*, *E-mail*: 2994854643@*qq.com*.
[*Correspondence to*]: *WEI Na*, *Professor*, *Ph.D.*, *E-mail*: 315696538@*qq.com*; *KONG Yidan*, *Ph.D.*, *E-mail*: *chengchengzier*163@163.*com*.
Received: 2024-08-14 *Revised*: 2024-11-08 *JHMU*, 2025;31(18):1370-1378

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective**: To screen the best salt-processing technology of *Amomum* (*A.*) *longiligulare* T.L.Wu. **Methods**: Using the mass fraction of two index components [3, 5-diacetoxy-1, 7-bis (3, 4-dihydroxy-phenyl) heptane and 5-hydroxy-3, 7, 4′-trimethoxy-flavonoids] and the extraction rate of polysaccharide as evaluation indexes, the weight coefficients of each evaluation index were determined by entropy weight method. Box-Behnken response surface method was used to investigate the effects of water and salt ratio, roasting wattages, and roasting time on the processing technology of *A. longiligulare* T.L.Wu, and to screen the best salt-processing parameters of *A. longiligulare* T.L.Wu. **Results**: The optimum parameters of salt processing were for every 50 g of *A. longiligulare* T.L.Wu, the ratio of water to salt was 20∶1 (mL/g), the quenching time was 4 h, the roasting time was 25 min, and the roasting wattage was 300 w. Three batches of samples were prepared in parallel, and the comprehensive scores were 94.86, 92.21, 93.18, and the RSD was 1.44%, respectively. **Conclusion**: The optimized salt-prepared process of *A. longiligulare* T.L.Wu is stable and feasible, which can provide reference for the study of processing technology of *A. longiligulare* T.L.Wu, and provide reference for the quality control of *A. longiligulare* T.L.Wu.

[Key words] *Amomum longiligulare* T.L.Wu; Processing technology; Response surface method; Entropy weight method

砂仁是姜科豆蔻属植物阳春砂、海南砂、绿壳砂的干燥成熟果实,是中医常用的一味芳香性药材[1]。因其良好的药用价值,与槟榔、益智、巴戟天共称为“四大南药”。海南砂仁是海南的道地药材,主要的功效是化湿开胃,已经有一千多年的应用历史[1]。经研究发现,海南砂仁具有二芳基庚烷类、多

[基金项目] 海南省自然科学基金资助项目(821RC743);海南医学院研究生创新科研课题资助项目(HYYB2022A48,HYYS2022B15)
[作者简介] 程倩颖,E-mail:2994854643@qq.com。
[通讯作者] 魏娜,教授,博士,E-mail:315696538@qq.com;孔奕丹,博士,E-mail:chengchengzier163@163.com。
[收稿日期] 2024-08-14 [修回日期] 2024-11-08 网络出版时间:2024-11-21 11:17:19

糖类、黄酮类等成分[2]。其中,3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷为海南砂仁的非挥发性成分中含量最大的二芳基庚烷类成分,具有抗氧化活性[3]。5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮作为黄酮类成分,是海南砂仁中具代表性的活性成分之一,因其分子结构具有羟基,在抗氧化方面发挥良好的作用。除此之外,其也具有抑菌、抗肺结核、保肝等作用,如海南砂仁中的5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮[4]。此外,砂仁多糖作为海南砂仁中的大分子成分,具有抗氧化、免疫调节、镇痛、抗炎等活性[5]。据记载,砂仁的古代炮制方法有“捣细用”、炒法、煨法、姜汁炒、盐水浸炒等十多种方法[6]。现如今砂仁采用的炮制方法-盐炙法,可能是由清朝的盐水浸炒演变而来。2005版《中国药典》、安徽省、福建省、贵州省、辽宁省及全国中药炮制规范均记载砂仁的盐炙法,但均以“取净砂仁,照盐水炙法炒至干”为判断标准,未对砂仁具体炮制工艺参数进行明确规定。现代研究表明砂仁经过加工炮制后,使药理活性发生改变[7,8]。因此,开展海南砂仁盐炙工艺的研究,可为盐炙海南砂仁质量标准的建立及临床合理用药提供参考。

本研究以3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷的含量、多糖提取率和5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮的含量为评价指标,在单因素研究的基础上,采用熵权法结合响应面法设计优化海南砂仁盐炙工艺,旨在为海南砂仁的炮制工艺及提高盐炙海南砂仁质量提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器

98-1-C型数字控温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);减压旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司);U3000高效液相色谱仪(赛默飞);半制备型液相色谱仪(北京赛谱锐思);JYC-21HS29九阳电磁灶(九阳股份有限公司);ATY124电子天平(岛津菲律宾工厂)。

1.2 试药

对照品3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷和5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮均为实验室自制,从海南砂仁中分离得到,纯度均大于90%。食盐,购自海南省盐业有限公司;磷酸、甲醇均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,水为实验室自制蒸馏水。

1.3 方法

1.3.1 盐炙海南砂仁的制备 海南砂仁(批号:20231210,产地:海南省白沙自治区),购自海南省白沙自治区七坊镇,经海南医科大学药学院生药学教研室田建平教授鉴定为姜科植物海南砂*Amomum longiligulare* T.L.Wu的干燥成熟果实。

盐水的制备:先加适量食盐,加入蒸馏水,至食盐溶化,再取上层的澄清液备用[9]。取海南砂仁50 g,参照2020年版《中国药典》的盐炙法,药材和食盐的比例是50∶1(g/g),加入适量盐水拌匀,用保鲜膜盖住装样品的容器,闷润一段时间后,将炒锅预先加热至适当温度、再将样品放于炒锅内用文火快速翻炒至微黄,取出,放凉,即得。

1.3.2 色谱条件 色谱柱是赛默飞C_{18}柱(200 mm×4.6 mm,5 μm),水相(A)是含0.1%甲酸的超纯水,甲醇是有机相(B),流动速度是1 mL/g,波长为263 nm,柱子温度是30 ℃,进样体积为5 μL,色谱梯度洗脱条件见表1。

表1 梯度洗脱条件

Tab 1 Gradient elution conditions

时间(min)	溶剂A(%)	溶剂B(%)
0	95	5
60	0	100

1.3.3 对照品溶液的制备 精密称取3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷对照品适量,加甲醇溶解,并定容于1 mL容量瓶中,得到浓度为5.9 mg/mL的对照品母液1。精密称取5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮对照品适量,于1 mL容量瓶中,加乙腈定容,得到浓度为0.6 mg/mL的对照品母液2。

1.3.4 供试品溶液的制备 取盐炙海南砂仁样品适量,粉碎,经70%乙醇提取得到盐炙海南砂仁醇提物浸膏,精密称取浸膏约0.2 g于锥形瓶中,精密加入50%甲醇10 mL,超声20 min,过滤,即得。

1.3.5 方法学考察

1.3.5.1 线性关系考察 将5.9 mg/mL的3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷对照品母液1,依次往下稀释成6个浓度,将0.6 mg/mL的对照品母液2也依次往下稀释,再将其按照“1.3.2”项下进行进样分析,以对照品峰面积为纵坐标,对照品浓度为横坐标,制作标准曲线,将其进行回归分析处理得到方程和相关系数(R)。

1.3.5.2 精密度试验 取3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷对照品溶液,按“1.3.2”项下条件在1 d内重复进样6次测定精密度,得到精密度结果并计算RSD;取5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮对照品溶液,按“1.3.2”项下条件在1 d内重复进样6次测定精密度,得到精密度结果并计算RSD。

1.3.5.3 重复性试验 按“1.3.1”项下方法制备盐炙海南砂仁，精密称取6份样品浸膏，每份0.2 g，加入50%甲醇10 mL，超声过滤后，按“1.3.2”项下条件，计算得到3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮峰面积RSD。

1.3.5.4 稳定性试验 取盐炙海南砂仁供试品溶液，按“1.3.4”项下方法制备得到供试品溶液，于室温条件下，在12 h内每隔2 h进样测定，计算得到3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮峰面积RSD。

1.3.6 多糖提取率的计算 采用水提醇沉法提取盐炙海南砂仁多糖[10]。称取10 g盐炙海南砂仁，按照海南砂仁和蒸馏水比例为1∶15，加入蒸馏水，提取2次，每次提取1 h，待提取液温度冷却后，过滤除去滤渣，合并滤液，浓缩，浓缩液按照1∶4的配比添加60%无水乙醇，混合均匀后于4 ℃冰箱内，静置沉淀24 h，过滤，干燥，得盐炙海南砂仁多糖。

盐炙海南砂仁多糖提取率(Y,%)公式：

$$Y=\frac{x_1}{x_2}\times 100$$

式中x_1为干燥后盐炙海南砂仁多糖的重量(g)；x_2为盐炙海南砂仁的取样重量(g)。

1.3.7 熵权法计算权重

熵权法具体计算方法如下[11]。

(1)归一化处理。

$$X_{ij}'=\left(X_{ij}-X_{jmin}\right)/\left(X_{jmax}-X_{jmin}\right)$$

(2)计算第j次试验在第i个评价指标下的概率P_{ij}：

$$P_{ij}=X_{ij}'/\sum_{j=1}^{n}X_{ij}'$$

(3)计算各项指标的信息熵：

$$H_i=-k\sum_{j=1}^{n}P_{ij}InP_{ij},k=1/In(m)$$

(4)计算各指标的权重系数：

$$W_i=1-H_i/\sum_{i=1}^{m}(1-H_i)$$

1.3.8 综合评分确定 运用熵权法对响应面法实验数据进行赋权，按下式计算综合评分y=[$R_1\times Y_1/Y_1$ (max) $+R_2\times Y_2/Y_2$ (max) $+R_3\times Y_3/Y_3$ (max)]×100%(式中，Y_1～Y_3分别为3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷质量分数、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮质量分数、多糖提取率；Y_1(max)～Y_3(max)分别为上述成分实测值的最大值，R_1～R_3分别为3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷质量分数、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮质量分数、多糖提取率的权重系数)[12]。该评分越高，表示盐炙工艺越优。

1.3.9 单因素实验 取海南砂仁50 g，加入适量盐水拌匀，闷润，文火炒干。以盐炙海南砂仁中两种指标成分和盐炙海南砂仁多糖提取率为指标，初步筛选盐炙海南砂仁盐炙过程中可能影响指标成分含量的四个因素：水盐比例(15∶1、20∶1、25∶1)、闷润时间(2、4、6 h)、炒制瓦数(120、300、600 W)和炒制时间(10、20、30 min)。

1.3.9.1 水盐比例 取3份各50 g海南砂仁，按照药材和食盐的比例是50∶1(g/g)，分别加入15、20、25 mL盐水，加入待炮炙品中拌匀，闷润4 h，置于炒制瓦数为300 W的炒锅内，炒30 min，取出，放凉备用。按照“1.3.2”、“1.3.4”和“1.3.6”项下方法，测定各成分含量，综合评价计算总评分。

1.3.9.2 焖润时间 取3份各50 g海南砂仁，按照食盐和蒸馏水比例是1∶20(g/mL)，加入20 mL盐水，闷润时间分别为2、4、6 h后，300 W炒30 min，阴凉处静置备用。按照“1.3.2”、“1.3.4”和“1.3.6”项下方法，测定各成分含量，综合评价计算总评分。

1.3.9.3 炒制瓦数 取3份各50 g海南砂仁，按照食盐和蒸馏水比例是1∶20(g/mL)，加入20 mL盐水，闷润4 h，分别于120、300、600 W下炒制30 min，阴凉处静置备用。按照“1.3.2”、“1.3.4”和“1.3.6”项下方法，测定各成分含量，综合评价计算总评分。

1.3.9.4 炒制时间 取3份各50 g海南砂仁，按照食盐和蒸馏水比例是1∶20(g/mL)，加入20 mL盐水，闷润4 h，于300 W条件下分别炒制10、20、30 min，阴凉处静置。按照“1.3.2”、“1.3.4”和“1.3.6”项下方法，测定各成分含量，综合评价计算总评分。

1.3.10 响应面法优化实验 在单因素试验的基础上，结合当地的环境湿度情况，排除了闷润时间这一因素选取了水盐比例(A)、炒制瓦数(B)、炒制时间(C)这3个因素为自变量，以综合评分为响应值，自变量因素及水平见表2。

1.3.11 响应面分析 运用Design Expert 10软件分析响应面数据，建立3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮和盐炙海南砂仁多糖提取率的综合评分(Y)对水盐比例(X_1)、炒制瓦数(X_2)、炒制时间(X_3)的二次多元回归模型方程，进行方差分析，并进行最佳盐炙海南砂仁工艺预测，参考响应面优选方案，进行海南砂仁盐炙工艺的验证实验。

2 结果

2.1 盐炙海南砂仁中3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,

表2　响应面实验因素及水平

Tab 2　Factors and levels of response surface

水平	A水盐比例 (mL/g)	B炒制瓦数 (W)	C炒制时间 (min)
−1	15∶1	120	10
0	20∶1	300	20
1	25∶1	600	30

4-二羟基苯基)庚烷和5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮的含量测定

2.1.1　系统适用性　将2种对照品溶液、海南砂仁样品溶液和盐炙海南砂仁样品溶液的色谱图进行比较,结果发现,2个对照品分别在39 min,55 min左右出现色谱峰,且峰形良好,见图1。

2.1.2　线性关系考察　由回归方程结果可知,2个化合物线性范围良好(R^2>0.999 2),见表3。

2.1.3　精密度　测定了3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷对照品溶液得到的精密度RSD为1.21%,5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮对照品溶液得到的精密度RSD为3.61%,实验结果表明仪器精密度良好。

2.1.4　重复性　测定了3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷对照品溶液得到的重复性RSD为0.25%,5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮对照品溶液得到的重复性RSD为4.17%,实验结果表明该方法重复性良好。

2.1.5　稳定性　测定了3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷对照品溶液得到的稳定性RSD为0.16%,5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮对照品溶液得到的稳定性RSD为2.31%,结果表明,在12 h内,盐制海南砂仁样品溶液稳定性符合要求。

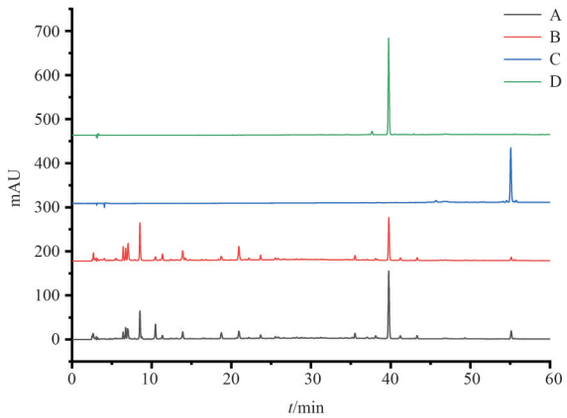

图1　(A、B)3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷和5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮的对照品溶液;(C、D)海南砂仁和盐炙海南砂仁供试品溶液的HPLC图谱

Fig 1　HPLC chromatogram of (A,B) 3,5-diacetoxy-1,7-bis (3,4-dihydroxyphenyl) heptane and 5-hydroxy-3,7,4′-trimethoxy-flavone as standard solution and (C,D) *Amomum longiligulare* T.L.Wu and salted *Amomum longiligulare* T.L.Wu sample solution

2.2　单因素实验

2.2.1　各指标成分权重系数及综合评分的确定　根据单因素实验结果,3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷质量分数、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮质量分数、多糖提取率的权重系数结果见表4,可按下式计算综合评分 y=[0.329×Y_1/Y_1(max) +0.34×Y_2/Y_2 (max) +0.331×Y_3/Y_3(max)]×100%(式中,Y_1~Y_3分别为3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷质量分数、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮质量分数、多糖提取率;Y_1(max)~Y_3(max)分别为上述成分实测值的最大值。

表3　2种成分的线性关系考察结果

Tab 3　Linear relationship inspection results of the 2 constituents

化学成分	回归方程	R^2	线性范围(μg/mL)
3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷	Y=14.915x+0.618	1.000	92.188~5 900.000
5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮	Y=301.180x−1.342	0.999	4.688~600.000

表4　各指标成分的权重数据

Tab 4　Weight value of each indicator component

权重	3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷	5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮	多糖提取率
W_i	0.329	0.340	0.331

2.2.2　水盐比例对海南砂仁盐炙工艺综合评分的影响　随着水盐比例的增多,综合评分先升高后降低,在水盐比例为20∶1时,综合评分达到最高,见表5。

表5 水盐比例对指标性成分的影响

Tab 5 Effects of water-salt ratio on the index composition

水盐比例（mL/g）	3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷（mg/g）	5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮（mg/g）	多糖提取率（%）	综合评分（分）
15∶1	81.23	0.92	4.60	88.22
20∶1	84.78	0.91	4.78	90.07
25∶1	76.35	0.92	4.71	87.19

2.2.3 闷润时间对海南砂仁盐炙工艺综合评分的影响 随着闷润时间的增多，综合评分先升高后降低，在闷润时间为4 h时，综合评分达到最高，见表6。

表6 闷润时间对指标性成分的影响

Tab 6 Effects of dampening time on the index composition

闷润时间（h）	3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷（mg/g）	5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮（mg/g）	多糖提取率（%）	综合评分（分）
2	82.75	0.88	3.96	83.55
4	83.10	0.84	4.60	86.04
6	88.84	0.83	3.76	82.63

2.2.4 炒制瓦数对海南砂仁盐炙工艺综合评分的影响 随着炒制瓦数的增大，综合评分先升高后降低，在炒制瓦数为300 W时，综合评分达到最高，见表7。

表7 炒制瓦数对指标性成分的影响

Tab 7 Effects of roasted wattage on the index composition

炒制瓦数（W）	3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷（mg/g）	5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮（mg/g）	多糖提取率（%）	综合评分（分）
120	91.42	0.80	2.96	77.42
300	96.74	0.79	5.54	94.44
600	95.89	0.62	4.95	84.65

2.2.5 炒制时间对海南砂仁盐炙工艺综合评分的影响 随着炒制时间的增加，综合评分先升高后降低，在炒制时间为20 min时，综合评分达到最高，见表8。

表8 炒制时间对指标性成分的影响

Tab 8 Effects of roasting time on the index composition

炒制时间（min）	3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷（mg/g）	5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮（mg/g）	多糖提取率（%）	综合评分（分）
10	70.51	0.74	4.37	76.84
20	94.75	0.94	4.35	92.21
30	96.74	0.79	3.47	82.07

2.3 响应面优化实验结果

2.3.1 响应面实验结果 根据各指标性成分的权重系数可计算综合得分，同实验结果汇总于表9。

2.3.2 模型拟合及方差分析 运用Design Expert 10软件分析表9数据，建立3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮和盐炙海南砂仁多糖提取率的综合评分(Y)对水盐比例(X_1)、炒制瓦数(X_2)、炒制时间(X_3)的二次多元回归模型方程：$Y=94.55-1.77A+2.45B+4.59C-1.09AB+0.37AC+7.72BC-7.35A^2-18.57B^2-2.27C^2$。

方差分析结果见表10，二项式拟合方程的$P<0.000\ 1$，说明该模型选择合理，失拟项$F=0.88$，大于0.05，说明拟合度佳，综合表格数据分析，说明该模型可用于预测盐炙海南砂仁的炮制工艺。

2.3.3 响应面分析及最佳盐炙工艺预测 使用De-

表9 海南砂仁盐炙工艺的响应面试验结果

Tab 9 Response surface test results of *Amomum longiligulare* T.L.Wu salt processing

序号	A水盐比例（mL/g）	B炒制瓦数（W）	C炒制时间（min）	3,5-二乙酰氧基-1，5-羟基-3,7,4′-三7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷（mg/g）	甲氧基黄酮（mg/g）	多糖提取率（%）	综合评分（分）
1	15∶1	120	20	68.53	0.79	3.93	67.13
2	25∶1	120	20	63.23	0.73	3.81	63.14
3	15∶1	600	20	71.98	0.87	4.78	75.77
4	25∶1	600	20	63.25	0.73	4.65	68.48
5	15∶1	300	10	89.13	1.02	4.28	81.81
6	25∶1	300	10	87.64	0.97	4.31	80.18
7	15∶1	300	30	95.03	1.07	4.35	85.39
8	25∶1	300	30	94.82	1.06	4.38	85.24
9	20∶1	120	10	83.42	0.92	3.88	74.81
10	20∶1	600	10	61.52	0.72	3.82	62.42
11	20∶1	120	30	68.51	0.79	4.35	69.79
12	20∶1	600	30	97.65	1.09	4.52	87.8
13	20∶1	300	20	111.93	1.22	4.73	96.95
14	20∶1	300	20	103.24	1.13	4.8	92.33
15	20∶1	300	20	98.16	1.1	5.03	91.46
16	20∶1	300	20	102.04	1.12	5.09	93.54
17	20∶1	300	20	93.57	1.04	5.21	89.59

表10 回归模型方差分析

Tab 10 ANOVA for regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	*F*	*P*
模型	1 955.36	9	217.26	30.41	＜0.000 1
A-水盐比例	24.28	1	24.28	3.40	0.107 7
B-炒制瓦数	48.02	1	48.02	6.72	0.035 8
C-炒制时间	163.63	1	163.63	22.91	0.002 0
AB	4.88	1	4.88	0.68	0.435 7
AC	0.55	1	0.55	0.077	0.789 9
BC	246.15	1	246.15	34.46	0.000 6
A^2	227.28	1	227.28	31.82	0.000 8
B^2	1 235.53	1	1 235.53	172.96	＜0.000 1
C^2	21.73	1	21.73	3.04	0.124 6
残差	50.00	7	7.14		
失拟项	19.92	3	6.64	0.88	0.521 8
纯误差	30.09	4	7.52		
总差	2 005.36	16			

sign Expert 10获得“1.3.10”项下样品的炮制条件与3个指标关系的响应面图（图2）。结果显示，炒制瓦数（B）与炒制时间（C）间交互作用最强，响应曲面陡峭；水盐比例（A）与炒制瓦数（B）间的交互作用相对较弱，曲面较为陡峭；水盐比例（A）与炒制时间（C）间交互作用最弱。

优化得到的海南砂仁最佳盐炙工艺为蒸馏水和食盐比例是19.565∶1（mL/g）、炒锅的设置瓦数是300 W、炒制25.786 min。考虑到当地的环境湿度情况，结合实际操作，确定海南砂仁的最优盐炙工艺：取50 g海南砂仁生品，按照药材∶食盐的比例是50∶1（g/g），蒸馏水和食盐比例是20∶1（mL/g），加入盐水20 mL，拌匀，用保鲜膜盖住装样品的容器，闷润4 h后，将炒锅预先加热至300 W、再将样品放于炒锅内快速翻炒25 min。

2.4 工艺验证

根据优选出的盐炙海南砂仁最佳炮制工艺，每50 g海南砂仁原药材，按照药材∶食盐的比例是50∶1（g/g），蒸馏水和食盐比例是20∶1（mL/g），加入盐水20 mL，拌匀，用保鲜膜盖住装样品的容器，闷润4 h后，将炒锅预先加热至300 W、再将样品放于炒锅内快速翻炒25 min。按照最佳盐制条件炮制3批盐炙海南砂仁，进行3次验证试验，实验结果见表11，平均综合评分为93.42，RSD＝1.44%，预测值为93.608，说明盐炙海南砂仁炮制工艺进行响应面优化具有一定的稳定性和可靠性，具备参考价值和可操作性。

表 11　工艺验证结果

Tab 11　Process validation results

序号	3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3, 5-羟基-3,7,4′-三甲氧基4-二羟基苯基)庚烷（mg/g）	3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3, 5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮（mg/g）	多糖提取率（%）	综合评分（分）	平均分（分）	RSD（%）
1	105.46	1.17	4.92	94.86		
2	97.61	1.08	5.26	92.21	93.42	1.44
3	103.22	1.14	4.89	93.18		

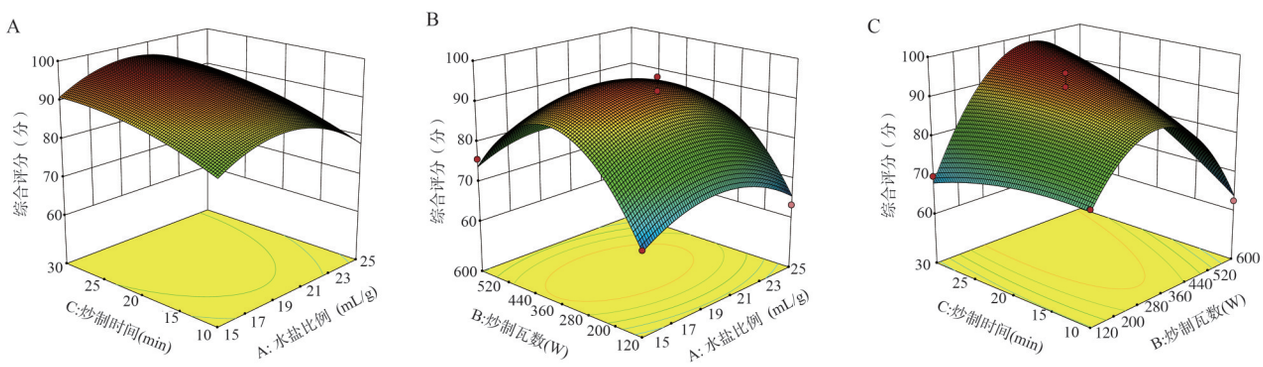

图 2　各因素交互作用的三维图

Fig 2　Three-dimensional diagram of the interaction of various factors

3　讨论

3.1　指标性成分的选择

中药因其独特的功效和神奇的魅力，作为中国传统医学的瑰宝，被广泛应用于各种疾病的治疗中，其疗效备受认可。与西药不同的是，中药以多成分共同作用而起效。据《中国药典》记载，挥发油总量和乙酸龙脑酯含量是砂仁的质量控制指标[1]，其中乙酸龙脑酯是海南砂仁挥发油中主要的化学成分之一。砂仁在临床上常用“后下水煎”，“后下”强调了挥发性成分，“水煎”强调了砂仁中的非挥发油类成分，这就说明了非挥发性成分和挥发性成分具有同等重要的作用，而且，这类成分能够被吸收入血、发挥作用[13]。从中药的疗效点出发，只以单个成分难以全面检测海南砂仁的质量，也忽略了海南砂仁疗效发挥的整体性，因此，在指标成分的选择过程中也考虑了砂仁非挥发性成分的药理作用，如3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷具有抗氧化活性[3]，5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮是具有抑菌、抗肺结核、保肝等生物活性[4]，砂仁多糖作为海南砂仁中的活性成分之一，具有抗氧化、免疫调节、镇痛、抗炎等活性[5]，故本研究选取非挥发性成分-3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷、5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮、多糖提取率作为海南砂仁炮制工艺的指标性成分。

3.2　色谱条件的选择

对于流动相的选择，本实验参考相关文献[14,15]，考察了流动相梯度洗脱的时间对3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷和5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮色谱峰的影响。当流动相为0.1%甲酸水(A)-甲醇(B)，梯度洗脱(5%～100%B)，洗脱时间为50 min时，5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮色谱峰的分离度小于1.5，但是当洗脱时间延长至60 min时，3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷和5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮色谱峰的分离度和峰型均较好，因此最终选择的洗脱时间为60 min。

3.3　样品溶剂的选择

根据黄酮类和二芳基庚烷类化合物性质，难溶于水，可溶于甲醇、乙醇等有机溶剂性质，本研究分别考察了使用甲醇、80%甲醇、50%甲醇作为盐炙海南砂仁的溶剂对3,5-二乙酰氧基-1,7-双(3,4-二羟基苯基)庚烷和5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮色谱峰的影响，结果甲醇溶剂、70%甲醇溶剂的含量测定结果相似，但由于甲醇溶剂毒性相较其他溶剂大，并且5-羟基-3,7,4′-三甲氧基黄酮色谱峰的分离度不太好，因此选用50%乙醇溶剂为盐炙海南砂仁的溶剂。

3.4 炮制工艺优化方法的选择

熵权法是一种通过对实验数据的权重进行赋值的客观分析方法，忽视了主观导致的偏差性，具有一定的准确性[16]。响应面法作为主要的多因素多水平实验设计方法之一，根据交互试验中心点，开展多因素多水平的试验，以响应面值与不同因素的关系建立函数，并将其函数通过图形的形式展示出来，具有快速、简便的特点，可用于最佳炮制工艺的优化[17]。本研究前期采用单因素实验考察筛选影响海南砂仁盐炙工艺的变量，再结果发现水盐比例、炒制瓦数和炒制时间对各指标成分含量影响较大，因此，结合盐炙海南砂仁炮制工艺及生产的实际情况，选择水盐比例、炒制瓦数和炒制时间为考察因素，采用熵权法结合响应面法，采用现代工艺研究方法优化盐炙海南砂仁的炮制工艺参数，最终确定最佳炮制工艺为：每 50 g海南砂仁原药材，按水盐比例 20∶1 (mL/g)加入盐水 20 mL，闷润 4 h后，300 W炒 25 min。本研究筛选得到的盐炙海南砂仁炮制工艺稳定可行，为后续的海南砂仁炮制规定建立提供一定的参考。

作者贡献度说明：

程倩颖：设计实验方案、进行实验并撰写论文；练勇、罗明权、周小妹、张迎：分析数据；孔奕丹、魏娜：提供研究思路、负责论文校审及指导。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

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，2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People′s Republic of China：Volume 1[S]. Beijing：China Pharmaceutical Science Press，2020.

2 屈慧娟，欧虹雅，林开文，等 . 海南砂仁化学成分和药理作用研究进展[J]. 海南医学院学报，2023，29(1)：72-75.
Qu HJ，Ou HY，Lin KW，et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Amomum longiligulare* T. L. Wu[J]. J Hainan Med Univ，2023，29(1)：72-75.

3 刘金鹏 . 佩兰和海南砂仁化学成分的分离与其抗氧化研究[D]. 杭州：浙江工商大学，2013.
Liu JP. Separation and antioxidant activity of the chemical constituents from *Eupatorium fortunei* TURCZ. and *Amomum longiligulare* T. L. Wu[D]. Hangzhou：Zhejiang Gongshang University，2013.

4 Omokhua-Uyi AG，Madikizela B，Aro AO，et al. Flavonoids of *Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H. Rob. as potential leads for treatment against tuberculosis[J]. S Afr J Bot，2023，158：158-165.

5 陈淇，李湘銮，曾晓房，等 . 砂仁多糖提取及其生物活性研究进展[J]. 食品安全质量检测学报，2023，14(4)：232-238.
Chen Q，Li XL，Zeng XF，et al. Progress on the extraction of polysaccharide from *Amomum villosum* Lour. and its biological activity[J]. J Food Saf Qual，2023，14(4)：232-238.

6 桂新景，范雪花，马蕊，等 . 砂仁的本草考证[J]. 中药材，2022，45(7)：1762-1768.
Gui XJ，Fan XH，Ma R，et al. Research on the materia medica of *Amomum villosum*[J]. J Chin Med Mater，2022，45(7)：1762-1768.

7 曹冠华，张雪，王希付，等 . 阳春砂仁生品与盐制砂仁不同溶剂萃取物抑菌效果比较[J]. 食品工业科技，2020，41(6)：82-87.
Cao GH，Zhang X，Wang XF，et al. Comparison of bacteriostatic effects of different extracts from *Fructus amomi* and its salt-processed products[J]. Sci Technol Food Indust，2020，41(6)：82-87.

8 曹冠华，张雪，邢瀚文，等 . 阳春砂仁干品盐砂仁姜砂仁抗氧化活性比较分析[J]. 时珍国医国药，2019，30(10)：2381-2384.
Cao GH，Zhang X，Xing HW，et al. Antioxidant activity comparison and analysis of *Fructus amomi* and its processed products with salt and ginger sauce[J]. Lishizhen Med Mater Med Res，2019，30(10)：2381-2384.

9 李佳鑫，周玲娟，张丽霞，等 . 基于气相色谱-质谱联用结合多元统计分析不同炮制方法对砂仁挥发性成分的影响[J]. 医药导报，2024，43(4)：607-613.
Li JX，Zhou LJ，Zhang LX，et al. Effects of different processing methods on the volatile components of *Amomi fructus* based on GC-MS and multivariate statistical analysis[J]. Herald Med，2024，43(4)：607-613.

10 Zhou Y，Qian C，Yang D，et al. Purification，structural characterization and immunomodulatory effects of polysaccharides from *Amomum villosum* Lour. on RAW 264.7 macrophages[J]. Molecules，2021，26(9)：2672.

11 雷欣荷，陈昕，孟江，等 . 熵权法结合星点设计-响应面法优化橘核的盐炙工艺[J]. 中国药房，2022，33(2)：165-171.
Lei XH，Chen X，Meng J，et al. Optimization of stir-frying with saltwater technology of *Citrus reticulata* by entropy weight method combined with central composite design-response surface method[J]. Chin

Pharm, 2022, 33(2): 165-171.

12 朱文婷, 陆美霞, 黄瑶洁, 等. 蜜糠炒苍术炮制工艺优选及其抗胃溃疡作用研究[J]. 中国药房, 2023, 34(18): 2213-2218.
Zhu WT, Lu MX, Huang YJ, et al. Study on the optimization of processing technology of honey bran-fried *Atractylodis Rhizoma* and its antigastric ulcer effect[J]. Chin Pharm, 2023, 34(18): 2213-2218.

13 米文娟. 基于水煎液胃肠道代谢吸收的砂仁质量评价研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
Mi WJ. Study on quality evaluation of *Amomum villiosum* Lour. based on gastrointestinal metabolism and absorption of water decoction[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2018.

14 郑美娟, 王小平. 炮制方法对长泰砂仁两种黄酮苷含量的影响研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(3): 623-625.
Zheng MJ, Wang XP. Study on the effects of processing methods on the contents of two flavonoid glycosides in Changtai *Amomum villosum*[J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(3): 623-625.

15 邹晓红, 刘梦楚, 蓝伦礼, 等. HPLC测定不同产地砂仁中原儿茶酸和香草酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(8): 62-66.
Zou XH, Liu MC, Lan LL, et al. Simultaneous determination of protocatechuic acid and vanillic acid in *Amomi fructus* by HPLC [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2017, 23(8): 62-66.

16 余明镜, 许锦珍, 祁晓旭, 等. 基于熵权法与响应面法优化小儿喜食口服液矫味工艺研究[J]. 亚太传统医药, 2024, 20(10): 26-30.
Yu MJ, Xu JZ, Qi XX, et al. Optimization of flavor correction process for pediatric Xishi oral liquid based on entropy weight method and response surface methodology[J]. Asia Pac Tradit Med, 2024, 20(10): 26-30.

17 闫茂颖, 隋欣彤, 冀国鑫, 等. 甘草汁制灵芝炮制工艺优化及体外抗氧化、抗炎活性评价[J]. 药学研究, 2024, 43(7): 631-638, 647.
Yan MY, Sui XT, Ji GX, et al. Optimization of processing technology of *Ganoderma lucidum* cooked in licorice juice and evaluation of its antioxidant and anti-inflammatory activities *in vitro*[J]. J Pharm Res, 2024, 43(7): 631-638, 647.

[**本文编辑**] 雷 燕 宋睿璞 陈思润