中图分类号:R94　　文献标志码:A　　文章编号:1006－4931(2025)10－0056－06
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2025.10.012

Box－Behnken响应面法优化淫羊藿超微粉制备工艺*

尹素娟,孙兴力,骆　航

(永州职业技术学院,湖南 永州　425100)

摘要:目的　优化淫羊藿超微粉的粉碎工艺。**方法**　在单因素试验基础上,以药材粒径、含水量、粉碎机轴长度(简称轴长)为考察因素,粉碎得率、D_{90}、休止角和*OD*值为评价指标,采用Box－Behnken响应面法及建立数字模型,对工艺条件进行优化,并验证。**结果**　影响因素强度依次为药材粒径、含水量、轴长;适宜粉碎工艺为药材粒径100目,含水量4%～6%,轴长0.4 cm,粉碎2次。验证试验中,3批样品平均粉碎得率为89.01%(*RSD*为0.06%),平均粒径为10.64 μm(*RSD*为0.92%),平均休止角为39.16°(*RSD*为0.38%)。方法重复性好,粒径大小稳定。**结论**　所得的制备工艺为淫羊藿全粉中药的应用提供了制备工艺依据。

关键字:淫羊藿;超微粉;Box－Behnken响应面法;制备工艺

Optimization of Preparation Process of *Epimedium brevicornu* Ultrafine Powder by Box－Behnken Response Surface Methodology

YIN Sujuan, SUN Xingli, LUO Hang

(Yongzhou Vocational Technical College, Yongzhou, Hunan, China　425100)

Abstract: Objective　To optimize the pulverization process of ultra fine powder of *Epimedium brevicornu*. **Methods**　On the basis of single factor experiment, the particle size of medicineal materials, water content and the length of crusher shaft (refered as shaft length) were used as the investigation factors, and the crushing yield, D_{90}, angle of repose and *OD* value were used as the evaluation indexes. The Box－Behnken response surface methodology and establishment of digital model were used. The process conditions were optimized. **Results**　The strength of influencing factors were particle size of medicine materials, water content and shaft length, respectively. The suitable crushing process was as follows: the particle size of medicinal materials was 100 meshes, the water content was 4%－6%, the shaft length was 0.4 cm, and the powder crushed twice. In the verification test, the average crushing yield of the three batches of samples was 89.01% (*RSD* = 0.06%), the average particle size was 10.64 μm (*RSD* = 0.92%), and the average angle of repose was 39.16 °(*RSD* = 0.38%). The repeatability was good and the particle size was stable. **Conclusion**　The obtained preparation process in this study provides a methodological basis for the application of epimedii folium whole traditional Chinese medicine powder.

Key words: *Epimedium brevicornu*; ultrafine powder; Box－Behnken response surface methodology; preparation process

淫羊藿始载于《神农本草经》,是临床补肾阳、强筋骨要药,历版《中国药典》均有收载[1]。研究表明,淫羊藿主要成分为黄酮、多糖、生物碱等[2－3],在心血管系统疾病、免疫系统异常、骨代谢紊乱、内分泌失调、生殖系统功能障碍方面均具有显著药理作用[4]。其临床主要用于治疗骨骼系统、乳腺、生殖系统、血液系统等方面的疾病[5],常用制剂有仙灵骨葆胶囊、壮骨关节丸、益气养血口服液、强阳保肾丸、前列回春胶囊等[6]。近年来,随着市场对淫羊藿药材的需求量急剧增加,导致其资源骤减,出现价格上涨,部分地区甚至出现混用《中国药典》未收载的同属其他品种的情况[7－9]。因此,亟须采取相关措施及新技术解决淫羊藿药材资源缺乏、价格上涨、伪劣品增多等问题,以实现淫羊藿药材的现代化和国际化。中药超微技术是利用物理手段使原料粉末实现细微超微的技术方法。应用此方法,得到的成品颗粒粒度小,分布均匀,粒径0.1～75 μm,粒度分布中心直径10～15 μm[10]。超微技术可有效提高药物生物利用度[11],且超微粉具有良好的流动性和分散性,因而缓释效果良好[12]。该技术被广泛采用[13]。本研究中通过Box－Behnken响应面法优化淫羊藿超微粉制备工艺,以期为淫羊藿全粉中药的制备提供依据。现报道如下。

1　仪器与试药

1.1　仪器

Bettersize2600型激光粒度分析仪(丹东百特仪器有限公司);FW－80型高速粉碎机(鹤壁市冶金机械设备有限公司);AUW220D型电子分析天平(日本Shimadzu公司,精度为0.01 mg);HBM 109型超微粉碎机(瑞安市瀚博机电有限公司);22L型医用超声波清洗仪(济宁

*基金项目:湖南省教育厅一般项目[21C1516];永州职业院校教育教学改革研究项目[yzzyjy2023047];永州职业技术学院院级课题[YZ22QN03]。

第一作者:尹素娟,女,硕士研究生,讲师,研究方向为中药鉴定及开发利用,(电子信箱)912761609@qq.com。

科源超声波设备有限公司）。

1.2 试药

纯化水、无水乙醇和甘油均购自北京化工厂有限责任公司。淫羊藿药材采集于全国各地中药房和药材交易市场，并经恒康大药房股份有限公司刘平阳高级工程师鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 超微粉制备

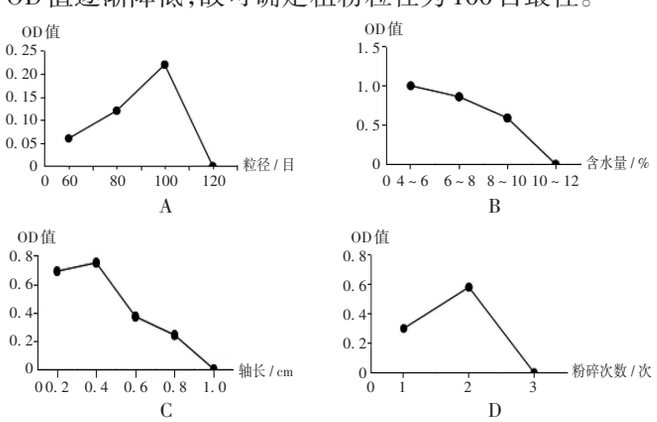
利用高速粉碎机对药材样品进行粗粉碎，分别过4、5、6号筛后得到粗粉，再分别置超微粉碎机中，设置不同粉碎参数进行相应粉碎。激光粒度分析仪检测，粉末D_{90}小于75 μm即为超微粉，根据公式（1）计算粉碎得率。并根据粉碎得率、休止角和D_{90}的测定结果，采用Hassan法进行归一（0～1）处理，计算各指标归一值，再计算3个指标归一值的几何平均数，根据公式（2）得到总评归一值（*OD*）。

$$粉碎得率(\%) = 超微粉质量(g) / 粉碎前药材粉末质量(g) \times 100\% \quad (1)$$

$$OD = (d_1 \times d_2 \times d_3)^{1/3} \quad (2)$$

2.2 单因素试验

药材粒径：取样品粉末适量，粉碎机轴长度（简称轴长）0.4 cm，含水量4%～6%，气流超微粉碎1次，考察不同粒径目数（60，80，100，120目）对OD值的影响，结果见图1 A。表明，随着药材粒径增大，OD值先呈逐渐增大的趋势；但当粒径增至100目后，随着粒径增大OD值逐渐降低，故可确定粗粉粒径为100目最佳。



A. 粒径 B. 含水量 C. 轴长 D. 粉碎次数

图1 单因素试验

A. Particle size B. Moisture content C. Shaft length D. Crushing times

Fig. 1 Single factor test

药材含水量：取样品粉末适量，轴长0.4 cm，粒径100目，气流超微粉碎1次，考察含水量（4%～6%、6%～8%、8%～10%、10%～12%）对OD值的影响，结果见图1 B。表明，随着药材含水量增大，OD值呈逐渐减小的趋势，当含水量增大到10%～12%时，OD值降为0，故可确定药材含水量以4%～6%最佳。

轴长：取样品粉末适量，粒径100目，含水量4%～6%，气流超微粉碎1次，考察轴长（0.2，0.4，0.6，0.8，1.0 cm）对OD值的影响，结果见图1 C。表明，随着轴长增大，OD值呈逐渐减少的趋势，故可确定轴长以0.4 cm最佳。

粉碎次数：取样品粉末适量，轴长0.4 cm，粒径100目，含水量4%～6%，考察不同粉碎次数（1，2，3次）对OD值的影响，结果见图1 D。表明，随着粉碎次数增加呈逐渐增大的趋势，但当粉碎次数增加到2次后*OD*值降低，故可确定粉碎次数以2次最佳。

2.3 响应面试验

2.3.1 试验设计及结果

基于单因素考察，分别确定了以药材粒径（A）、含水量（B）、轴长（C）为考察因素，粉碎得率（Y_1）、D_{90}（Y_2）、休止角（Y_3）和OD值（Y_4）为评价指标。因素与水平见表1（因素B取中间值表示）。

采用Design－Expert v8.0.6软件默认设置，安排5组零水平中心试验，得到了表2中17组交互试验。结果见表2。

表1 因素与水平

Tab. 1 Factors and levels

水平	因素A（目）	因素B（%）	因素C（cm）
－1	60	5	0.2
0	80	7	0.4
1	100	9	0.6

表2 响应面试验设计及结果

Tab. 2 Design and results of response surface test

试验号	因素			粉碎得率（%）	D_{90}（μm）	休止角（°）	OD值
	A	B	C				
1	－1	－1	0	83.35	11.05	41.61	0.56
2	1	－1	0	89.85	12.31	40.89	0.75
3	－1	1	0	82.32	13.56	39.45	0
4	1	1	0	88.32	11.88	41.26	0.59
5	－1	0	－1	85.01	10.85	40.17	0.47
6	1	0	－1	89.65	11.51	40.54	0.74
7	－1	0	1	84.49	14.11	40.68	0.42
8	1	0	1	91.65	12.51	42.77	0.74
9	0	－1	－1	87.11	10.34	41.61	0.92
10	0	1	－1	86.64	10.60	41.26	0.51
11	0	－1	1	88.11	10.34	44.50	0.92
12	0	1	1	87.64	13.60	42.34	0.61
13	0	0	1	87.31	12.28	40.27	0.82
14	0	0	1	87.56	12.92	39.14	0.79
15	0	0	1	88.16	12.22	40.59	0.74
16	0	0	1	87.14	12.75	39.96	0.78
17	0	0	1	87.58	12.68	40.06	0.85

2.3.2 Y_1 的响应面回归分析及响应面分析

根据表 2 的试验数据，采用 Design - Expert v8.0.6 软件（下同）对 Y_1 的试验数据进行二次模型拟合，得回归方程 $Y_1 = 60.632 + 0.364A + 0.383B - 26.075C - 0.003AB + 0.158AC - 0.002A^2 - 0.239B^2 + 19.563C^2$。经方差分析（见表 3），回归方程满足精度检验项，模型 $F = 65.74$，$P < 0.0001$，表明所建模型良好；失拟项 $F = 0.94$，$P = 0.4994 > 0.05$，表明试验中未知因素干扰小。证明回归方程满足精度要求，具备后续分析的价值。

Y_1 关于三交互作用的响应曲面及等值面图见图 2 A（A_1，A_2）。因素 A 与因素 C 对 Y_1 的影响方式和大小具有较大差异。根据二者交互作用可知因素 A 取得水平上限时获得较高的 Y_1，而因素 C 则需参考因素 A 的具体水平。

2.3.3 Y_2 的响应面回归分析及响应面分析

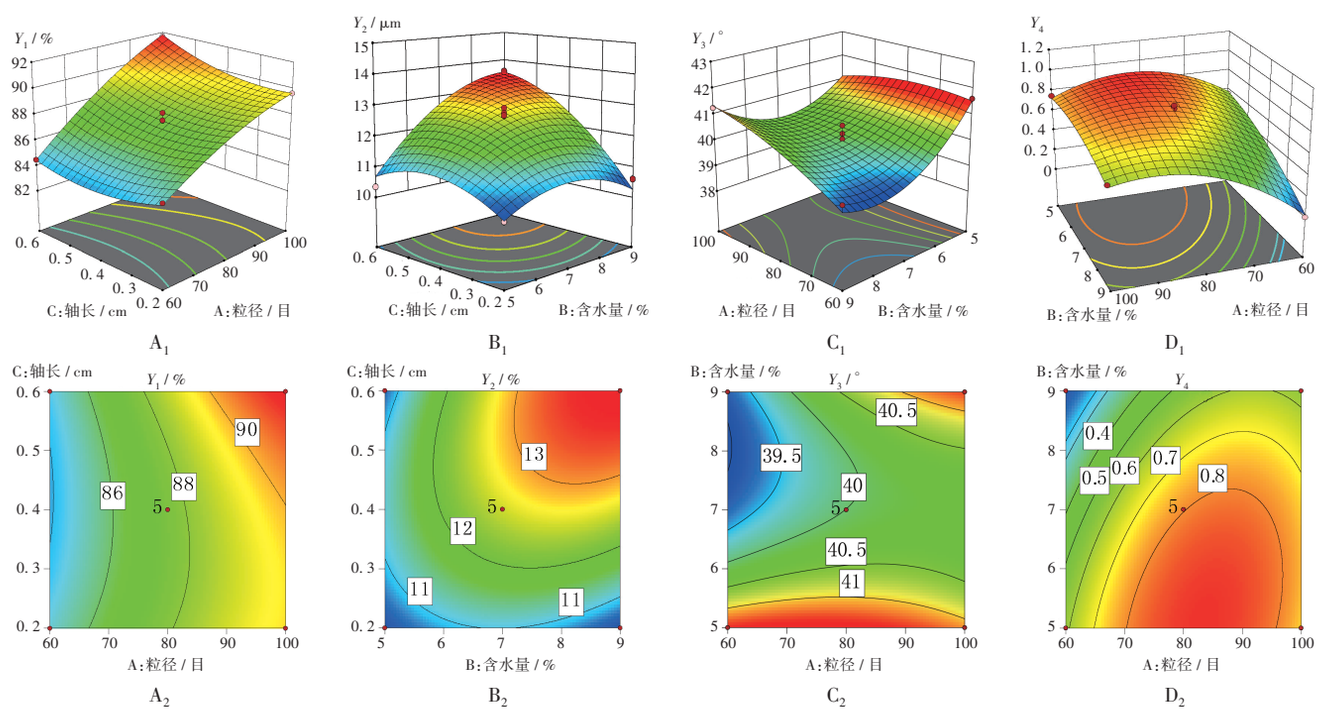
根据 Y_2 的试验数据进行二次模型拟合，得回归方程 $Y_2 = -648 + 0.046A + 3.511B + 15.763C - 0.018AB$。经方差分析（见表 4），方程满足精度检验项，模型 $F = 18.66$，$P = 0.0004 < 0.05$，表明所建模型良好；失拟项 $F = 1.75$，$P = 0.2944 > 0.05$，表明试验中未知因素的干扰小。证明回归方程满足精度要求，具备后续分析的价值。

Y_2 关于三交互作用的响应曲面及各自等值面图见图 2 B（B_1，B_2）。结果显示，各等值线之间的距离较均匀，Y_2 的极大值是一个不断向右上方移动的过程，当因素 B 达到 9% 且因素 C 达到 0.6 cm 时，Y_2 达到最大值。

表 3 粉碎得率的方差分析结果

Tab. 3 Results of variance analysis of crushing yield

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	86.38	9	9.6	65.74	< 0.0001
A	73.81	1	73.81	505.61	< 0.0001
B	1.53	1	1.53	10.49	0.0143
C	1.51	1	1.51	10.37	0.0146
AB	0.06	1	0.06	0.43	0.5338
AC	1.59	1	1.59	10.88	0.0132
BC	0	1	0	0	1
A^2	1.68	1	1.68	11.54	0.0115
B^2	3.86	1	3.86	26.44	0.0013
C^2	2.58	1	2.58	17.66	0.0040
残差	1.02	7	0.15		
失拟项	0.42	3	0.14	0.94	0.4994
惊误差	0.60	4	0.15		
总变异	87.40	16			



A_1，A_2. 轴长和粒径的交互作用对粉碎得率的影响　B_1，B_2. 轴长和含水量的交互作用对 D_{90} 的影响　C_1，C_2. 粒径和含水量的交互作用对休止角的影响　D_1，D_2. 含水量和粒径的交互作用对 OD 值的影响

图 2 各指标关于三交互作用的响应曲面及等值面图

A_1，A_2. Effects of interaction between shaft length and particle size on crushing yield　B_1，B_2. Effects of interaction between shaft length and moisture content on D_{90}　C_1，C_2. Effects of interaction between moisture content and shaft length on angle of repose　D_1，D_2. Effects of interaction between moisture content and particle size on OD value

Fig. 2 Response surface diagram and isosurface diagram of three interactions of various indexes

表4 D_{90}的方差分析结果

Tab. 4 Results of variance analysis of D_{90}

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	20.75	9	2.31	18.66	0.000 4
A	0.23	1	0.23	1.87	0.213 7
B	3.92	1	3.92	31.72	0.000 8
C	6.59	1	6.59	53.31	0.000 2
AB	2.16	1	2.16	17.49	0.004 1
AC	1.28	1	1.28	10.33	0.014 8
BC	2.25	1	2.25	18.21	0.003 7
A^2	0.45	1	0.45	3.65	0.097 5
B^2	2.05	1	2.05	16.58	0.004 7
C^2	1.79	1	1.79	14.51	0.006 6
残差	0.87	7	0.12		
失拟项	0.49	3	0.16	1.75	0.294 4
纯误差	0.37	4	0.09		
总变异	21.62	16			

2.3.4 Y_3的响应面回归分析及响应面分析

根据Y_3的试验数据进行二次模型拟合，得回归方程$Y_3 = 61.560 - 0.14A - 4.907B - 23.098C + 0.016AB + 0.108AC - 1.131BC - 0.001A^2 + 0.273B^2 + 33.263C^2$。经方差分析（见表5），方程满足精度检验项，模型$F = 12.20$，$P = 0.001\ 7 < 0.05$，表明所建模型良好；失拟项$F = 0.56$，$P = 0.669\ 9 > 0.05$，表明试验中未知因素的干扰较小。证明回归方程满足精度要求，具备后续分析的价值。

根据方差分析结果，三组交互作用中仅有因素A和因素B为显著交互项，故仅对该交互作用进行分析。虽然因素C为高度显著项但其与因素A、因素B的交互结果未对Y_3产生显著影响，故与其交互项无显著差异。详见图2 C（C_1，C_2）。因素A与因素B的交互曲面，该曲面形状不规则，曲面上不同位置曲率各不相同致使Y_3受二者影响的变化规律也非完全固定。因此，Y_3较差的因素水平范围为因素B为6.7%～9%且因素A为80～90目，但其最小值等值面投影图中仅在一个很小的区域内，具体水平组合尚需进一步分析。

表5 休止角的方差分析结果

Tab. 5 Results of variance analysis of angle of repose

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	25.95	9	2.88	12.20	0.001 7
A	1.58	1	1.58	6.67	0.036 4
B	2.31	1	2.31	9.78	0.016 7
C	5.63	1	5.63	23.82	0.001 8
AB	1.60	1	1.60	6.77	0.035 3
AC	0.74	1	0.74	3.13	0.120 2
BC	0.82	1	0.82	3.47	0.105 0
A^2	0.37	1	0.37	1.55	0.253 9
B^2	5.03	1	5.03	21.29	0.002 4
C^2	7.45	1	7.45	31.54	0.000 8
残差	1.65	7	0.24		
失拟项	0.49	3	0.16	0.56	0.669 9
纯误差	1.17	4	0.29		
总变异	27.60	16			

2.3.5 Y_4的响应面回归分析及影响面分析

根据Y_4的试验数据进行二次模型拟合，得回归方程$Y_4 = -2.284 + 0.084A - 0.011B - 1.271C + 0.003AB + 0.003AC + 0.006BC - 0.001A_2 - 0.022B_2 + 0.769C_2$。经方差分析（见表6），方程满足精度检验项，模型$F = 44.25$，$P < 0.000\ 1$，表明所建模型良好；失拟项$F = 1.41$，$P = 0.3626 > 0.05$，表明试验中未知的因素的干扰小。证明回归方程满足精度要求，具备后续分析的价值。

为提高回归方程的精确性和预测可信度，现将Y_4关于三因素的回归方程中有关因素C的项剔除（因素C高度不显著，且与因素A、因素B的交互结果未对Y_4产生显著影响），得回归方程$Y_4 = -2.284 + 0.084A - 0.001B + 0.003AB - 0.001A^2 - 0.022B^2$。

表6 OD值的方差分析结果

Tab. 6 Results of variance analysis of OD value

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	0.810 4	9	0.09	44.25	< 0.000 1
A	0.234 6	1	0.23	115.29	< 0.000 1
B	0.259 2	1	0.26	127.37	< 0.000 1
C	0.000 3	1	0.00	0.15	0.706 8
AB	0.04	1	0.04	19.66	0.003 0
AC	0.000 6	1	0.00	0.31	0.596 7
BC	0.00	1	0.00	1.23	0.304 3
A^2	0.23	1	0.23	113.54	< 0.000 1
B^2	0.03	1	0.03	15.57	0.005 6
C^2	0.00	1	0.00	1.96	0.204 6
残差	0.01	7	0.00		
失拟项	0.01	3	0.00	1.41	0.362 6
纯误差	0.01	4	0.00		
总变异	0.82	16			

Y_4关于交互作用的响应曲面及等值面图见图2 D（D_1，D_2）。结果显示，该交互曲面在大部分区域内的曲率较均匀，仅在因素A的水平上限和因素B的水平下限附近曲率快速增大。说明因素A和因素B对Y_4的作用规律高度可信，且在定量分析上也高度精准，因此，利用该回归方程进行预测的置信度极高。

2.4 优解搜索

采用Optimization模块以各因素水平范围作为定义

表7 最优解及各自最佳工艺组合

Tab. 7 Optimal solution and their respective best process combination

项目	数值			
因素A(目)	100	60	60	82.504
因素B(%)	6.392	5	8.028	5
因素C(cm)	0.6	0.2	0.385	0.2
Y_1(%)	91.885			
Y_2(μm)		9.56		
Y_3(°)			38.947	
Y_4				0.942

域对回归方程进行最优值计算，其中Y_1和Y_4以最大值为最优，Y_2和Y_3以最小值为最优。详见表7。

以上结果来自软件对回归方程的求解，软件计算精度达到了千分位，这有利于更精确地找出最佳工艺参数组合。然而，在实际的实验过程中，较高的因素取值精度会极大地增加实验难度，无法精准把控实验条件，导致实验周期冗长、效率低下。结合实际实验条件，将各因素的精度调整到十分位，并以此视为最佳工艺组合进行多次重复实验，实验结果显示Y_1为94.7%、Y_2为10.4 μm、Y_3为41.9°、Y_4为1。误差分别为3.0%，8.1%，7.2%，5.8%，均低于10%。说明各回归方程的精度和置信度较理想，故可利用回归方程对因素水平范围内的任意工艺参数组合下的4个研究指标进行预测，预测结果可信，结合各指标响应面分析，影响因素强度依次为A > B > C。

2.5 验证试验

淫羊藿超微粉适宜的粉碎工艺为，药材粒径100目，含水量4%～6%，轴长0.4 cm，粉碎2次。因此，取3份样品，按优选的工艺条件，根据2.1项下方法操作制备超微粉，进行验证。详见表8。结果粉碎得率、粒径、休止角的*RSD*均小于2%，表明该工艺重复性好，粒径大小稳定。

表8 验证试验结果

Tab. 8 Confirmatory results

编号	粉碎得率(%)	粒径(μm)	休止角(°)
1	89.06	10.53	39.32
2	89.02	10.74	39.02
3	88.96	10.65	39.15
$\overline{X}$	89.01	10.64	39.16
RSD(%)	0.06	0.92	0.38

3 讨论

超微粉碎技术是近年来国际上发展起来的一项对材料进行微粉化的新技术，其在中药制剂中显示独特优势。研究表明，采用超微粉碎技术得到的中药制剂可明显提高药效[14-15]。中药经超微粉碎后，由于细胞壁在粉碎时大部分被破坏，有效成分不需要通过细胞壁和细胞膜就能释放出来，因此，小剂量的超微药材细粉就可达到大剂量普通粉碎药材的疗效。史万玉等[16]发现，淫羊藿经超微技术后，其显微结构完全破坏。刘迎等[17]研究发现，淫羊藿经超微技术后，其淫羊藿多糖提取率提高了315.15%，说明淫羊藿经超微技术后，有助于其有效成分的溶出，大幅提高了其利用率。于帅海等[18]对比淫羊藿粗粉及超微粉发现，淫羊藿经超微粉碎后淫羊藿苷化学成分更易溶出，且溶出量增加，提示淫羊藿经超微技术后，其成分溶出率增加，可减少中药使用量，提高其经济价值。

目前，中药超微粉常采用的工艺机械粉碎法、气流粉碎法、振动粉碎法、工艺机械粉碎法结构简单，适用于中等硬度和弱热敏性中药的超微粉碎；气流粉碎法粒度均匀，适用于热敏性物料的粉碎，最大限度保留了中药的有效成分；振动粉碎法振动能量大，能量利用率高。本研究中采用气流高速粉碎机进行淫羊藿超微粉碎，该技术具有粉碎时间短、粉碎效率高、对设备要求高等特点[19]。

综上所述，淫羊藿超微粉适宜粉碎工艺为药材粒径100目，含水量4%～6%，轴长0.4 cm，粉碎2次。该研究结果为淫羊藿全粉中药的应用提供了制备工艺依据。

参考文献

[1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京：中药医药科技出版社，2020：229.
[2] 郭宝林，裴利宽，肖培根. 淫羊藿属植物黄酮类化合物的分类学意义再探[J]. 植物分类学报，2008，46(6)：874－885.
[3] 黄 涛. 糖肾康胶囊中淫羊藿提取纯化工艺研究[J]. 天津药学，2017，29(6)：25－28.
[4] 韩 冰，杨峻山. 淫羊藿药理作用研究概况[J]. 中草药，2000，31(11)：873－875.
[5] 何丽君，江金井，陈 豪，等. 淫羊藿药理作用和临床应用的研究进展[J]. 中医临床研究，2020，12(2)：17－20.
[6] 赵文静，王 历，王芝兰，等. 淫羊藿的药理作用及临床应用研究进展[J]. 中医药信息，2016，33(2)：105－108.
[7] 刘 芳，傅超美，李小红，等. 中药粉末饮片的研究与应用进展分析[J]. 中国实验方剂学杂志，2018，22(2)：222－225.
[8] 宋 叶，梅全喜，胡 莹，等. 中药破壁饮片临床应用研究进展[J]. 时珍国医国药，2019，30(1)：173－176.
[9] 李艺博，李 娟，刘碧原，等. 中药超微粉碎技术应用概况[J]. 中华中医药杂志，2020，35(9)：4568－4570.
[10] 张爱霞，辛二旦，边甜甜，等. 新型中药饮片的发展与趋势[J]. 中华中医药杂志，2019，34(2)：474－476.
[11] 范凌云，王振恒，余 琰，等. 不同粒径三黄粉粉体学性质及体外溶出度比较[J]. 中国中医药信息杂志，2015，22(9)：91－94.
[12] 吴 伟，崔光华，陆 彬. 实验设计中多指标的优化：星点