

·中药炮制·

蜜炙酸枣仁炮制工艺初步研究

隋利强¹,王 建²,陈喆明¹,黄礼书¹

(1.福建中医药大学,福建 福州 350108;2.济宁市食品药品检验检测中心,山东 济宁 272025)

〔摘要〕目的 优选蜜枣仁最佳炮制工艺。方法 以饮片外观、水溶性浸出物、脂肪油、总黄酮、斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 含量为指标,选定炮制温度、炮制时间、加蜜量三因素,按 $L_9(3^4)$ 正交试验设计优选蜜枣仁最佳炮制工艺。结果 通过工艺优化后,蜜枣仁最佳炮制工艺为:炮制温度 150 ℃、炮制时间 4.5 min、加蜜量 7.5%。结论 优化后的蜜炙酸枣仁工艺稳定可行。

〔关键词〕蜜枣仁;炮制工艺;正交试验;含量测定;斯皮诺素;酸枣仁皂苷 A

〔中图分类号〕R283 〔文献标识码〕B 〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.07.012

A Preliminary Study on Processing Technology of Honey-Fired Semen Ziziphi Spinosae

SUI Liqiang¹, WANG Jian², CHEN Zheming¹, HUANG Lishu¹

(1. Fujian University of Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350108, China; 2. Jining City Food and Drug Testing Center, Jining, Shandong 272025, China)

〔Abstract〕Objective To choose the optimal processing technology of honey-fired Semen Ziziphi Spinosae. Methods Through multiple indexes such as appearance, content of water extract, fatty oil, flavonoids, spinosin and jujuboside A, choose the best processing technology of honey-fired Semen Ziziphi Spinosae according to $L_9(3^4)$ orthogonal experiment design including three factor such as temperature, time and the ratio of honey, moreover design four levels for each factor. Results Through process optimization, the best processing technology of honey-fired Semen Ziziphi Spinosae is heating decoction pieces on the temperature of 150 ℃ in 4.5 min adding honey by 7.5% ratio. Conclusion The optimal processing technology of honey-fired Semen Ziziphi Spinosae is stable and feasible.

〔Keywords〕honey-fired Semen Ziziphi Spinosae; processing technology; orthogonal test; content determination; spinosin; jujuboside A

酸枣仁为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的种子,是临床应用较为广泛的中药,具有养肝、宁心安神、生津、敛汗的功效,临床主要用于治疗失眠、治心脾气血两虚,脾不统血证与治阴亏内热,心神不宁证等^[1]。酸枣仁临床常用生枣仁、炒枣仁,药典也收载上述两种饮片。除此之外,福州地区习惯用蜜枣仁,其用药历史悠久,该饮片收载《福建省中药饮片炮制规范》^[2],临床主要用于虚烦不眠、惊悸多梦、津伤口渴、体虚多汗等症。目前,蜜枣仁生产多依靠传统经验,缺乏客观化、数字化的工艺参数及质控指标,《福建省中药饮片炮制规范》中也只是简单描

述其炮制工艺,对辅料用量、加温度、加热时间、本品性状都无描述。如此饮片质量难于控制,进而会影响临床用药。

本实验以炮制温度、炮制时间、加蜜量为考察因素,以饮片外观、水溶性浸出物、脂肪油、总黄酮、斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 含量为指标,按 $L_9(3^4)$ 正交试验设计对蜜枣仁炮制工艺进行了初步研究,以期优化和规范其炮制工艺,保证蜜枣仁饮片的质量均一、稳定,确保临床安全用药。

1 仪器、试剂及药材

U3000 高效液相色谱仪(戴安中国有限公司);

〔收稿日期〕2015-09-07

〔基金项目〕福建省自然科学基金面上项目(2016J01386);福建中医药大学校管重点学科专项课题(X2014106)。

〔作者简介〕隋利强,男,讲师,研究方向:饮片炮制原理与炮制工艺规范化。

XS105 分析电子天平(梅特勒-托利多称重设备有限公司);TYPEK 型 TASI-600/601 数字温度计(苏州特安斯电子有限公司);UV-9600 分光光度计(13400912,京瑞利分析仪器有限公司);乙腈、甲醇试剂为色谱纯,其余试剂为分析纯。

酸枣仁(20141107,陇西聚堂中药材实业有限公司);芦丁(质量分数 98%,10080-200707,中国药品生物制品鉴定所);斯皮诺素(质量分数 99.35%,MuST-14042311,中国科学院成都生物研究所);枣仁皂苷 A(质量分数 98.60%,MuST-14072409,中国科学院成都生物研究所)。

2 蜜炙酸枣仁炮制工艺研究

2.1 因素水平设计

为研究蜜枣仁的炮制工艺,结合预实验结果对炮制温度、炮制时间、加蜜量进行三因素四水平正交试验,因素与水平安排见表 1。

表 1 正交试验因素水平

水平	炮制温度 A(°C)	炮制时间 B(min)	加蜜量 C(%)
1	130	3	5
2	150	5	8
3	170	7	10

2.2 蜜炙酸枣仁的制备

取生枣仁饮片,每份 100 g,按照正交设计方案进行炮制。

2.3 各指标检测方法及结果

2.3.1 水浸出物含量测定 按《中华人民共和国药典》^{[3]202}2015 年版四部浸出物测定法项下,水溶性浸出物测定法中的热浸法测定,结果见表 2。

2.3.2 脂肪油含量测定 参考《中华人民共和国药典》^{[3]80}2015 年版一部巴豆项下脂肪油含量测定方法,取样品粉末约 4 g,精密称定,置索氏提取器中,加石油醚(60%~90%)100 mL,回流提取 6 h,收集提取液,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上低温蒸干,再于 100 °C 干燥 1 h,置干燥器中放冷,精密称定,干燥品计算脂肪油含量,结果见表 2。

2.3.3 总黄酮含量测定^[4] 取样品约 1 g,加 60%乙醇 30 mL,加热回流 2 次,每次 3 h,滤过,将提取液和洗涤液并入 100 mL 量瓶中,加 60%乙醇至刻度,作为供试品溶液。

精密吸取样品溶液 5 mL 分别置于 25 mL 量瓶中,各加 30%乙醇至 6.0 mL,加 5%亚硝酸钠 1 mL 混匀,放置 6 min,再加 10%硝酸铝溶液 1 mL

摇匀,放置 6 min,加氢氧化钠试液 10 mL,加 30%乙醇至刻度,摇匀,放置 15 min。测定其吸收度 A 值,每份样品平行测定 3 次。

精密吸取 1、2、3、4、5、6 mL 芦丁对照品液,分别置 25 mL 量瓶中,各加 30%乙醇至 6.0 mL,以相应的试剂做空白,如上述方法测定其吸收度 y 值。以浓度 x 对吸收度 y 进行直线回归处理,

$$y=0.098x-0.0095, r=0.9996$$

结果芦丁在 8~48 μg/mL 范围内呈良好线性关系。该方法的精密度、稳定性、重现性良好,加样回收率为 103%,RSD=0.4%。各样品总黄酮含量结果见表 2。

2.3.4 斯皮诺素含量测定 按《中华人民共和国药典》2015 年版一部酸枣仁项下检测方法和相关文献^[3]5-7],色谱柱 WondaCract ODS-2;流动相乙腈-水,梯度洗脱;检测波长 335 nm;柱温 30 °C;流速 1 mL/min;进样量 10 μL。结果见表 2。

2.3.5 酸枣仁皂苷 A 含量测定 按《中华人民共和国药典》2015 年版一部酸枣仁项下检测条件,色谱柱 WondaCract ODS-2;流动相乙腈-水,梯度洗脱;柱温 30 °C;流速 10 mL/min;进样量 10 μL;以乙腈为流动相 A,以水为流动相 B;蒸发光散射检测器检测。结果见表 2。

综合评分标准:以综合加权评分的方法对各炮制品进行分析评价,饮片外观、水溶性浸出物含量、脂肪油溶出量、总黄酮含量、斯皮诺素含量和酸枣仁皂苷 A 含量分别占分析权重的 30%、10%、5%、15%、20%和 20%。以综合评分为评价指标,对蜜枣仁炮制工艺进行分析。其中饮片外观的评分标准主要考虑:(1)种皮是否开裂;(2)有无焦斑;(3)是否粘手;(4)饮片色泽是否暗红色,有光泽。采用扣分的形式,按项酌情扣分。

2.4 正交试验结果

制备样品各指标的评分结果见表 2-3。

由直观分析可知,各因素对蜜枣仁炮制工艺总评价影响顺序为 A>C>B;方差分析表明炮制温度对结果的影响具有统计学意义,而炮制时间、加蜜量在预实验因素水平下无统计学意义;综合正交试验的直观分析和方差分析结果,将蜜枣仁的最佳炮制工艺定为 A₂B₁C₂,即炮制温度 150 °C、炮制时间 3 min、加蜜量 8%。

3 工艺优化

结合正交实验与方差分析结果,联系生产实际,对最佳炮制工艺 A₂B₁C₂ 作进一步的优化,优化工艺

表2 蜜枣仁炮制工艺正交试验直观分析与评价

No	A	B	C	D	饮片外 观评分	浸出物 含量(%)	脂肪油 含量(%)	总黄酮 含量(%)	斯皮诺素 含量(%)	酸枣仁皂 苷 A(%)	总评
1	1	1	1	1	3	13.46	29.37	1.64	0.053 5	0.058 5	72.31
2	1	2	2	2	5	16.66	28.54	1.66	0.051 4	0.061 1	80.84
3	1	3	3	3	4	12.98	25.80	1.76	0.047 4	0.057 8	73.29
4	2	1	2	3	8.5	14.96	25.78	1.53	0.055 5	0.062 6	91.97
5	2	2	3	1	8	14.19	24.61	1.84	0.051 0	0.057 5	88.95
6	2	3	1	2	7	16.79	24.55	1.82	0.052 3	0.062 6	88.93
7	3	1	3	2	7	17.4	26.29	1.79	0.046 6	0.065 0	88.00
8	3	2	1	3	6	14.92	26.32	1.81	0.054 6	0.067 2	86.95
9	3	3	2	1	7	16.67	26.23	1.91	0.051 8	0.066 1	90.44
K1	75.477	84.090	82.727	83.897							
K2	89.950	85.580	87.750	85.923							
K3	88.463	84.220	83.413	84.070							
R	14.473	1.490	5.023	2.026							

表3 蜜枣仁炮制工艺方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	380.341	2	50.230	<0.05
B	4.087	2	0.540	>0.05
C	44.512	2	5.878	>0.05
误差	7.57	2		

注: $F_{0.05}(2,2)=19, F_{0.1}(2,2)=9$ 。

为炮制温度 150 ℃、炮制时间 4.5 min、加蜜量 7.5%。

按上述优化工艺,取 3 份生酸枣仁,加工饮片,并检测相关指标,其饮片外观的评分、水溶性浸出物、脂肪油、总黄酮、斯皮诺素以及酸枣仁皂苷 A 含量测定分别为 9、16.36%、26.9%、1.79%、0.047%、0.0583%,综合评分为 92.44。

结果显示工艺优化后蜜枣仁的饮片外观评分和主要成分指标理想,总评分与正交试验最佳工艺总评分接近,但更节省辅料,饮片外观更加美观。

表4 蜜枣仁优化工艺验证结果 (n=3)

	饮片外 观评分	浸出物 含量(%)	脂肪油 含量(%)	总黄酮 含量(%)	斯皮诺素 含量(%)	酸枣仁 皂苷 A(%)
1	9	16.61	26.9	1.76	0.046 1	0.059 3
2	9	16.58	26.8	1.73	0.048 9	0.057 0
3	9	16.56	26.9	1.79	0.047 0	0.058 3

4 工艺验证

取 3 份生酸枣仁饮片,每份 1 Kg,按最佳蜜炙工艺制备 3 批蜜炙酸枣仁饮片,分别进行性状评分以及浸出物、脂肪油、总黄酮、斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 的含量测定,结果见表 4。制备的 3 批蜜枣仁外观形状均符合要求,总黄酮含量 RSD 为 3%,斯皮诺素

含量 RSD 为 0.14%,酸枣仁皂苷 A 含量 RSD 为 0.12%,说明确定的蜜炙酸枣仁工艺稳定可行。

5 小结与讨论

本文以炮制温度、炮制时间、加蜜量为考察因素,以饮片外观、水溶性浸出物、脂肪油、总黄酮、斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 含量为指标按 $L_9(3^4)$ 正交试验,筛选最佳工艺为炮制温度 150 ℃、炮制时间 3 min、加蜜量 8%,结合实际生产考虑对其进行工艺优化,优化为炮制温度 150 ℃、炮制时间 4.5 min、加蜜量 7.5%,优化后通过实验测得各指标与最佳工艺相近,单更适合饮片生产,饮片外观也更加美观。采用优选的炮制工艺制备了 3 批蜜炙酸枣仁饮片,验证试验结果表明,优选的蜜炙酸枣仁炮制工艺稳定可行。

参考文献:

- [1] 曾碧映,李嘉滢,李新才,等.中药酸枣仁研究现状[J].湖南中医药大学学报,2012,32(12):74-75.
- [2] 福建省卫生厅.福建省中药炮制规范[S].福州:福建科学技术出版社,1988:498.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [4] 高剑峰,孙守景.酸枣仁及其不同炮制品中总黄酮的含量比较[J].时珍国医国药,2004,15(6):331-332.
- [5] 娄燕,贾英,何博赛,等.RP-HPLC 双波长法同时测定酸枣仁汤中 5 种成分的含量[J].沈阳药科大学学报,2013,30(7):537-540.
- [6] 常广璐,李国辉,李天祥,等.天津产与市售野生酸枣仁的质量比较研究[J].中草药,2015,11(5):751-755.
- [7] 崔思娇,罗洁,马天成,等.酸枣仁的超高效液相色谱指纹图谱[J].中国药理学杂志,2013,48(7):509-511.

(本文编辑 苏 维)