

正交试验法优选蜜糠炒枳壳炮制工艺

宁希鲜¹, 陈泣¹, 于欢^{1,2}, 熊丝丝¹, 龚千锋^{1,2*}

(1. 江西中医药大学药学院, 南昌 330004; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] **目的:** 优选并确立建昌帮枳壳蜜糠炒制工艺, 为规范蜜糠炒建昌帮特色饮片的炮制工艺提供参考。**方法:** 以柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷及醇溶性浸出物含量的综合评分为指标, 通过正交试验考察炮制时间、加蜜糠量、炮制温度对蜜糠枳壳炮制工艺的影响。采用 HPLC 测定柚皮苷、橙皮苷及新橙皮苷含量, 流动相乙腈-水 (18:82, 磷酸调 pH 2), 检测波长 283 nm。**结果:** 温度对炮制工艺具有显著性影响, 最佳枳壳蜜糠炒制工艺为炮制时间 80 s, 加蜜糠量 0.10 g·g⁻¹, 炮制温度 240 ℃; 醇溶性浸出物、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷质量分数分别为 28.242%, 4.782%, 0.160%, 2.819%。**结论:** 优选的炮制工艺合理、可靠、重复性好, 适用于蜜糠枳壳的工业化生产。

[关键词] 蜜糠炒; 建昌帮枳壳; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷; 出膏率

[中图分类号] R283.2; R283.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)23-0028-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014230028

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141027.1524.007.html>

[网络出版时间] 2014-10-27 15:24

Optimization of Stir-frying Processing with Honey Chaff for Jianchangbang Aurantii Fructus by Orthogonal Design

NING Xi-xian¹, CHEN Qi¹, YU Huan^{1,2}, XIONG Si-si¹, GONG Qian-feng^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize and establish a stir-frying process with honey chaff for Jianchangbang Aurantii Fructus, then to provide a reference for regulating stir-frying processing technology with honey chaff of Jianchangbang features herbal pieces. **Method:** With comprehensive score of contents of naringin, hesperidin, neohesperidin, ethanol soluble extractives as indicator, orthogonal test was adopted to optimize processing technology of Aurantii Fructus by taking processing time, add honey chaff quantity and processing temperature as factors. HPLC was employed to determine contents of naringin, hesperidin and neohesperidin with mobile phase of acetonitrile-water (82:18, adjusted pH to 2 with phosphoric acid) and detection wavelength at 283 nm. **Result:** Temperature had significant effect on processing technology, the best processing technique was: processing time of 80 s, adding quantity of honey chaff 0.10 g·g⁻¹, processing temperature at 240 ℃; contents of ethanol soluble extractives, naringin, hesperidin and neohesperidin were 28.242%, 4.782%, 0.160% and 2.819%. **Conclusion:** This optimized processing technology is reasonable, reliable and suitable for industrial production of Aurantii Fructus with honey chaff.

[Key words] stir-frying with honey chaff; Jianchangbang Aurantii Fructus; naringin; hesperidin; neohesperidin; ethanol soluble extractives

[收稿日期] 20140414(020)

[基金项目] 国家中医药行业专项(201007011)

[第一作者] 宁希鲜, 在读硕士, 从事中药炮制研究, Tel:15083836474, E-mail:453386430@qq.com

[通讯作者] * 龚千锋, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制研究, Tel:0791-87118852, E-mail:gongqf2002@163.com

枳壳具有理气宽中、行滞消胀的功效,可用于胸胁气滞、胀满疼痛、食积不化、痰饮内停、脏器下垂等证^[1],主要化学成分为黄酮类、挥发油类及少量生物碱等^[2]。由于枳壳性燥,在炮制加工方面多以炒法、麸炒等方法缓和其燥性^[3-4]。建昌帮以糠制药,历史悠久,用蜜糠炒炙枳壳,将谷壳与蜂蜜加适量水调匀后拌炒至干而得,取糠和蜂蜜的性能,具有缓和药性、增强药物疗效及矫味矫臭的作用。目前对于建昌帮蜜糠法炮制枳壳的现代研究较少,本实验以柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷及醇溶性浸出物含量为综合评价指标,以炮制时间、加蜜糠量、炮制温度为考察因素,采用正交试验优选炮制工艺,为规范枳壳的炮制工艺及其蜜糠炒炙炮制机制提供参考^[5]。

1 材料

Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(美国戴安),FA1004N 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司),TE212-L 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),TN408LC 型红外测温枪(上海仪迷杰光电技术有限公司)。

柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,批号分别为 Y60-111012,1045-071214,1350-080123),谷糠(江西樟树药材市场),乙腈、甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。枳壳药材购自江西樟树药材市场,批号 1308015,经江西中医药大学范崔生教授鉴定为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* 及其栽培变种的干燥未成熟果实,建昌帮枳壳饮片由本实验室自制。

2 方法与结果

2.1 蜜糠枳壳的制备 称取蜂蜜 25 g,加入水 12.5 g,用玻璃棒拌匀,缓缓倒入糠(100 g)中,搅拌均匀,用炒锅炒制基本不粘手,得蜜糠。将蜜糠均匀撒布于热锅中,待烟起后投入枳壳,炒至枳壳颜色加深至切面色泽微黄时,迅速出锅,冷却后筛去蜜糠,得蜜糠枳壳。

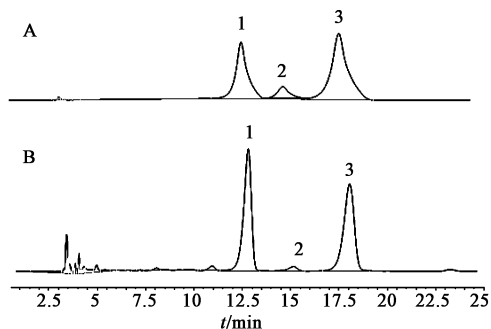
2.2 对照品溶液的制备 精密称取柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品适量,分别置于 10,50,10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,得 1.95,0.346,2.18 g·L⁻¹ 对照品贮备液。依次精密量取上述对照品贮备液 2,1,1 mL 置于同一 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,得混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取蜜糠枳壳样品适量,粉碎,精密称取中粉 0.1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 100 mL,称定质量,超声 30 min,用甲醇补足减

失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 mL 至蒸发皿中,蒸干,称干膏重。干膏加甲醇溶解并转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 指标成分的含量测定

2.4.1 色谱条件 Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(18:82,磷酸调 pH 2),检测波长 283 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 40 ℃,进样量 10 μL。理论塔板数以柚皮苷计算不低于 4 000,见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;1. 柚皮苷;2. 橙皮苷;3. 新橙皮苷

图 1 蜜糠枳壳 HPLC

2.4.2 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液 1,2,5,10,15,20 μL,按 2.4.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷回归方程分别为 $Y = 27.748X + 1.103$ ($r = 0.9999$), $Y = 28.071X - 0.058$ ($r = 0.9997$), $Y = 30.194X + 0.011$ ($r = 0.9999$),线性范围依次为 0.078 ~ 1.156, 0.006 92 ~ 0.138 4, 0.043 6 ~ 0.872 μg。

2.4.3 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 5 μL,按 2.4.1 项下色谱条件重复进样 6 次,计算柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷峰面积的 RSD 分别为 0.05%,0.03%,0.09%,表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 取枳壳药材粉末(过 40 目筛),按 2.1 项下方法制备蜜糠枳壳,精密称取 6 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.1 项下色谱条件测定,计算柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷峰平均质量分数分别为 3.647%,0.107%,2.821%,RSD 分别为 0.7%,0.1%,0.6%,表明该方法重复性良好。

2.4.5 稳定性试验 精密称取枳壳药材粉末(过 40 目筛)0.5 g,按 2.1 项下方法制备蜜糠枳壳,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,分别于 0,1,2,4,8,12,24 h 按 2.4.1 项下色谱条件测定,计算柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷峰面积的 RSD 分别 0.6%,

0.2% ,0.5% ,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.6 加样回收率试验 精密称取已知柚皮苷和新橙皮苷含量的蜜糠枳壳 6 份,每份约 0.1 g,分别

置于 100 mL 圆底烧瓶中,各加入柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷对照品贮备液适量,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.1 项下色谱条件测定,计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 蜜糠枳壳中柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷含量测定的加样回收率试验

组分	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
柚皮苷	0.104 8	4.008 6	1.95	6.025 1	103.41	102.36	2.9
	0.100 4	3.840 3	1.95	5.894 0	105.32		
	0.102 2	3.909 2	1.95	5.801 4	97.04		
	0.099 8	3.817 4	1.95	5.816 0	102.49		
	0.100 6	3.848 0	1.95	5.977 0	104.05		
	0.100 8	3.855 6	1.95	5.842 2	101.88		
橙皮苷	0.104 8	0.132 0	0.173	0.301 1	97.75	99.09	2.3
	0.100 4	0.126 6	0.173	0.305 7	103.53		
	0.102 2	0.128 8	0.173	0.299 8	98.84		
	0.099 8	0.125 8	0.173	0.294 0	97.23		
	0.100 6	0.126 8	0.173	0.298 1	99.02		
	0.100 8	0.127 0	0.173	0.296 9	98.21		
新橙皮苷	0.104 8	2.059 3	2.18	4.171 2	96.88	99.87	2.0
	0.100 4	1.972 9	2.18	4.178 9	101.19		
	0.102 2	2.008 2	2.18	4.153 7	98.42		
	0.099 8	1.961 1	2.18	4.169 2	101.29		
	0.100 6	1.976 8	2.18	4.197 8	101.88		
	0.100 8	1.980 7	2.18	4.150 6	99.54		

2.5 正交试验 根据预试验结果,选取炒制时间、蜜糠用量、炒制温度为考察因素,每个因素取 3 个水平,不考虑交互作用。取切制后的枳壳药材 100 g,切制成人字片,共 9 份,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。以新橙皮苷、橙皮苷、柚皮苷、醇溶性浸出物质量分数的综合评分为指标,权重系数分别为 20% ,20% ,20% ,40% ,醇溶性浸出物按 2010 年版《中国药典》一部附录 X A 浸出物测定法测定,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

由直观分析可知,各因素对炮制工艺的影响顺序为 $C > B > A$ 。方差分析表明因素 C 对综合评分具有显著性影响,因素 A, B 则均无显著性影响。因素 A 与柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷含量存在一定的负相关,因素 B, C 则与柚皮苷、橙皮苷及新橙皮苷含量存在一定的正相关,且柚皮苷含量与橙皮苷含量存在显著的正相关。综合分析,确定蜜糠炒建昌帮枳壳的最佳工艺条件为每 100 g 枳壳药材投蜜糠 10 g,炒制温度 240 ℃,炒制时间 80 s。

2.6 验证试验 为验证最佳工艺的科学性、稳定性

和可重复性,取切制后的枳壳药材 100 g,切制成人字片,共 3 份,按优选的炮制工艺进行验证试验,结果醇溶性浸出物、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷质量分数平均值分别为 28.242% , 4.782% , 0.160% , 2.819% , RSD 依次为 0.4% , 1.0% , 0.003% , 0.03% 。

3 讨论

预试验对影响蜜糠制备方法的因素进行考察^[6],比较了加蜜量、加糠量和加水量三者的比例关系,结果发现每 25 mL 蜂蜜加入冷水 12.5 mL 调匀后倒入 100 g 谷壳中拌匀得到的蜜糠效果较佳。在色谱条件方面对流动相种类及配比等考察^[7]了甲醇-水、乙腈-水的不同配伍比例和 pH 等情况,结果发现流动相乙腈-水(18:78,用磷酸调 pH 2)时各组分含量测定能达到很好的分离效果。本文建立的蜜糠炒枳壳方法,通过化学成分变化考察了不同炮制时间、加蜜糠量、炮制温度对建昌帮蜜糠炒枳壳炮制工艺的影响,既遵循了传统炮制原则,同时结合了现代分析技术,对具体工艺及评判指标进行了综合

表2 蜜糠枳壳炮制工艺正交试验安排及直观分析

No.	A 炒制时间 /s	B 蜜糠用量 /g·g ⁻¹	C 炒制温度 /℃	D(空白)	浸出物/%	柚皮苷/%	橙皮苷/%	新橙皮苷/%	综合评分/分
1	80	0.10	160	1	30.439	3.523	0.136	2.163	88.54
2	80	0.15	200	2	25.152	3.557	0.142	2.248	83.21
3	80	0.20	240	3	26.548	4.505	0.159	2.733	94.89
4	120	0.10	200	3	26.996	3.422	0.125	2.062	83.25
5	120	0.15	240	1	28.730	3.251	0.124	2.030	82.63
6	120	0.20	160	2	26.826	3.579	0.132	2.140	83.40
7	160	0.10	240	2	30.431	3.826	0.152	2.371	93.48
8	160	0.15	160	3	25.142	3.305	0.126	1.965	77.96
9	160	0.20	200	1	26.933	3.584	0.133	2.147	83.74
K ₁	266.64	265.27	255.68	254.91					
K ₂	249.28	245.46	250.20	260.09					
K ₃	256.84	262.03	271.00	257.76					
R	17.36	19.81	20.80	5.18					

表3 综合评分方差分析

方差来源	SS	MS	F	P
A	50.51	25.25	11.26	>0.05
B	75.28	37.64	16.78	>0.05
C	90.27	45.13	20.12	<0.05
D(误差)	4.49	2.40		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

考量,为蜜糠炒枳壳饮片质量标准的制定提供了实验依据。

[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,2010:229.

[2] 肖培根. 新编中药志. 第二卷[M]. 北京:化学工业出版社,2002:4431.

[3] 张金莲,谢一辉,何敏,等. 多指标正交法优选樟帮枳壳饮片炮制工艺[J]. 中成药,2011,33(2):287.

[4] 孙冬梅. 中药枳壳的炮制方法研究概况[J]. 中国医学创新,2010,7(12):171.

[5] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社,2012:162.

[6] 江西省食品药品监督管理局. 江西省中药饮片炮制规范[S]. 上海:上海科学技术出版社,2009:575.

[7] 袁德俊,吴启瑞,吴雪茹. 用气相色谱质谱联用仪(GC-MS)分析枳实麸炒前后挥发油化学成分的变化[J]. 中医学报,2013,28(8):1175.

[责任编辑 刘德文]