

星点设计-效应面法优选蜜糠炒白术的炮制工艺

孟振豪¹, 韩永红², 钟凌云^{1*}

(1. 江西中医药大学药学院, 南昌 330004; 2. 江苏护理职业学院, 江苏淮安 223300)

[摘要] 目的: 优选蜜糠炒白术的炮制工艺, 为建昌帮炮制工艺的传承提供实验依据。方法: 以白术内酯 I、III 及水浸出物含量的总评“归一值”(overall desirability, OD) 为因变量, 蜜糠用量、炒制时间、炒制温度为自变量, 采用星点设计-效应面法优选蜜糠炒白术的炮制工艺并进行预测分析。结果: 最佳炮制工艺为蜜糠用量 55.8%, 炒制温度 261 °C, 炒制时间 3.4 min。水浸出物、白术内酯 I 和 III 的质量分数分别为 71.5%, 0.028%, 0.069%。OD 分别为 0.74, 0.76, 0.72。OD 预测值与真实值的偏差 1.4%。结论: 采用星点设计-效应面法优选的蜜糠炒白术炮制工艺稳定可行且预测性良好, 为规范地方饮片特色炮制工艺及其质量标准提供参考。

[关键词] 白术内酯 I; 白术内酯 III; 水浸出物; 总评“归一值”; 白术

[中图分类号] R283.3; R284.1; R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)15-0019-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015150019

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150610.0950.008.html>

[网络出版时间] 2015-06-10 9:50

Optimization of Processing Technology of Honey Bran-fried Atractylodis Macrocephalae Rhizoma by Central Composite Design-response Surface Methodology MENG Zhen-hao¹, HAN Yong-hong², ZHONG Ling-yun^{1*} (1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Jiangsu Vocational College of Nursing, Huai'an 223300, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize processing technology of honey bran-fried Atractylodis Macrocephalae Rhizoma, in order to provide experimental basis for inheriting Jianchangbang processing technology. **Method:** Central composite design-response surface methodology was used to optimize processing technology of honey bran-fried Atractylodis Macrocephalae Rhizoma and make a predictive analysis with overall desirability (OD) of contents of atractylenolide I, III and water extracts as the dependent variable, honey bran consumption, frying time and frying temperature as independent variables. **Result:** Optimum processing technology was 55.8% of honey bran fried for 3.4 min at 261 °C. Mass fractions of water extracts and atractylenolide I, III were 71.5%, 0.028%, 0.069% with ODs of 0.74, 0.76, 0.72, respectively. Deviation between the predicted value and the actual value of OD was less than 1.4%. **Conclusion:** Central composite design-response surface methodology for optimizing processing technology of honey bran-fried Atractylodis Macrocephalae Rhizoma is stable and highly predictable, it can provide a reference for standardizing local decoction pieces processing technologies and their quality.

[Key words] atractylenolide I; atractylenolide III; water extract; overall desirability; Atractylodis Macrocephalae Rhizoma

白术主产于浙江、安徽、湖南等地,性温,味苦、甘,归脾、胃经,具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎

的功效^[1]。白术历来多以炮制品入药,2010年版《中国药典》收录了土炒、蜜炙麸炒白术 2 种规

[收稿日期] 20150414(011)

[基金项目] 江西省主要学科科学技术带头人培养计划项目(20133BCB22006);江西中医药大学校级专项(2012FC002)

[第一作者] 孟振豪, 硕士, 从事中药饮片质量标准 and 炮制机制研究, Tel:13687915768, E-mail:mengzhenhao324@163.com

[通讯作者] * 钟凌云, 教授, 博士生导师, 从事中药饮片质量标准及炮制机制研究, Tel:079187118939, E-mail:ly1638163@163.com

格^[5],也不乏有地方炮制特色的品种,其中江西建昌帮是采用蜜糠来炒制白术。建昌帮的炮制辅料中尤以谷糠炒最有特色,如谷糠煨、煨制药材,蜜糠炒炙药材,同时谷糠还用于净选、润制、吸湿、密封养护等,使“南糠北麸”成为南北药帮炮制流派的一个显著区别^[2]。目前关于白术炮制工艺的研究中,麸炒、清炒、土炒炮制工艺的文献报道较多,关于建昌帮蜜糠炒白术炮制工艺的研究较少,而且多采用正交试验优选。本实验以白术内酯 I, III 质量分数和水浸出物含量为质控指标,采用星点设计-效应面法优选建昌帮蜜糠炒制白术的工艺参数,为该炮制品的质量标准研究提供参考。

1 材料

UltiMate3000 型高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司,包括 PDA-3000 型二极管阵列紫外检测器和 Chromeleon 工作站),AE240 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),YF-11B 型中药粉碎机(中国瑞安永历制药有限公司),ST20 型红外测温仪(美国雷泰公司)。白术购于樟树天齐堂药业,经江西中医药大学赖学文教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephalae* 的根茎;蜂蜜(上海冠生园有限公司),糠皮(南昌市郊区农家),白术内酯 I, III 对照品(南昌贝塔生物科技有限公司,批号分别为 10042,10044),甲醇为色谱纯,水为高纯水。

2 方法和结果

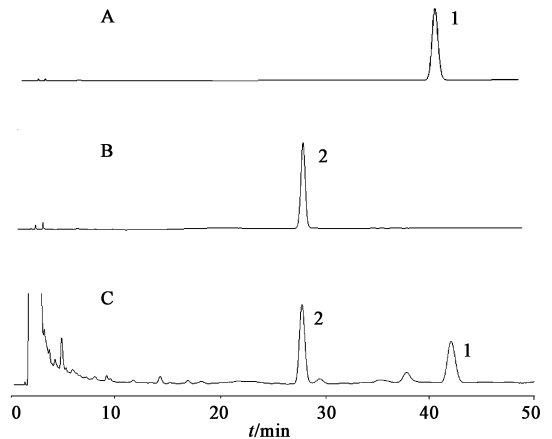
2.1 蜜糠炒白术的制备^[3] 取定量的蜜制谷糠,撒入热锅内,炒至冒青烟时,将谷糠铺平锅底并向四周铺开(在炒制过程中用测温枪控制锅底温度)。加入净选切制后的白术饮片,向四周的蜜糠覆盖,30 s 后,快速拌炒至饮片表面呈嫩黄色或色变深,药片酥脆易折,透香气。取出蜜糠,筛去蜜糠,趁热倒入烧杯内,密闭转橘黄色,即得。

2.2 白术内酯 I, III 的含量测定

2.2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(60:40),柱温 30 °C,流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 220 nm,进样量 10 μL。见图 1。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取白术内酯 I, III 对照品适量,分别加甲醇制成质量浓度分别为 263,242 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取白术炒制样品适量,粉碎,过四号筛,精密称定样品粉末 2 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 20 mL,称定质量,超声 30



A, B. 对照品; C. 供试品; 1. 白术内酯 I; 2. 白术内酯 III

图 1 蜜糠炒白术 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Atractylodis Macrocephalae* Rhizoma frying with honey-bran

min,加甲醇补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取白术内酯 I 对照品溶液 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL,按 2.2.1 项下条件测定,以峰面积值为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 63.882X + 1.119$ ($r = 0.9995$),线性范围 0.1315 ~ 2.630 μg。精密吸取白术内酯 III 对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL,按上述方法操作,得回归方程 $Y = 44.357X - 0.3164$ ($r = 0.9999$),线性范围 0.242 ~ 2.42 μg。

2.2.5 精密度试验 精密吸取 2.2.2 项下各对照品溶液 10 μL,按 2.2.1 项下条件连续测定 6 次,计算白术内酯 I, III 峰面积的 RSD 分别为 1.2%, 1.5%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0, 6, 12, 15, 18, 24 h 按 2.2.1 项下条件进样,计算白术内酯 I, III 峰面积的 RSD 分别为 0.8%, 2.1%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 精密称取同一样品 6 份,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下条件测定,计算白术内酯 I, III 峰面积的 RSD 分别为 1.8%, 2.1%,表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知指标成分含量(白术内酯 I, III 质量分数分别为 0.1693, 0.3293 mg·g⁻¹)同一药材粉末 6 份,每份 1 g,精密加入一定量白术内酯 I, III 对照品溶液,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 蜜糠炒白术中白术内酯 I, III 含量测定的加样回收率试验

Table 1 Recovery test of determination of atractylenolide I and III from *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* frying with honey-bran

成分	称样量 /g	样品中量 / μg	加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
白术内酯 I	1.015	171.84	450	619.86	99.56	97.98	1.3
	1.036	175.39	450	609.42	96.45		
	1.047	177.26	450	615.34	97.35		
	1.039	175.09	450	617.31	98.27		
	1.056	178.78	450	625.45	99.26		
	1.065	180.30	450	616.62	96.96		
白术内酯 III	1.015	334.24	550	880.23	99.27	101.15	1.2
	1.036	341.15	550	899.13	101.45		
	1.047	344.78	550	907.16	102.25		
	1.039	342.14	550	905.18	102.37		
	1.056	347.74	550	899.17	100.26		
	1.065	350.70	550	907.85	101.30		

2.3 水浸出物的含量测定^[4] 按《中国药典》2010 年版(一部)附录 X A 项下冷浸法测定。取白术样品约 4 g, 称定质量, 置 250 mL 锥形瓶中, 精密加入水 100 mL, 塞紧, 称定质量, 放置 1 h。用橡胶管

连接多个冷凝管, 组装成连续回流装置, 加热已经装样的锥形瓶至沸腾并保持微沸 1 h。放冷, 取下锥形瓶, 密塞, 称定质量, 用水补足减失的质量, 摇匀, 用干燥抽滤器过滤。精密量取滤液 25 mL 置已干燥至恒重的且已经称重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 于 105 ℃ 烘箱中干燥, 3 h 后取出, 冷却 30 min, 迅速称定质量, 以干燥品计算样品中水溶性浸出物的含量。

2.4 星点设计与效应面分析 在单因素试验基础上, 选取蜜糠用量、炒制锅底温度、炒制时间为自变量, 每个自变量设计 5 个水平, 以白术内酯 I, III 及水浸出物含量的总评“归一值”(overall desirability, OD)^[5] 为因变量, 精密称取 20 份白术样品, 每份 2 g, 采用星点试验优选炮制工艺参数, 试验安排及结果见表 2。OD = $(d_1 d_2 \cdots d_k)^{1/k}$ (k 为指标数), 3 个指标的数值均为越大越好, 故采用 Hassan^[6] 方法进行数学转换求 OD, $d_{\max} = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min})$ 。采用 Design Expert 8.0 软件进行数据处理, 得拟合方程 $Y = 28.89 - 0.290A - 0.077B - 5.748C - 5.025AB - 0.015AC + 5.775BC + 5.15A^2 + 1.46B^2 + 0.59C^2$ ($r = 0.9197, P = 0.0002$), 说明该方程拟合度较好, 绘制各自变量的相应曲面, 见图 2。

表 2 蜜糠炒制白术炮制工艺星点试验分析

Table 2 Central composite design analysis of processing technology of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* frying with honey-bran

No.	A 蜜糠用量 /%	B 炒制锅底温度 / $^{\circ}\text{C}$	C 炒制时间 /min	水浸出物 /%	白术内酯 I /%	白术内酯 III /%	OD
1	44.2	261	3.4	72.72	0.016 93	0.032 93	0.37
2	55.8	261	3.4	71.76	0.033 81	0.056 34	0.74
3	44.2	318.9	3.4	69.99	0.028 29	0.074 26	0.72
4	55.8	318.9	3.4	71.05	0.032 69	0.065 18	0.76
5	44.2	261	4.58	64.13	0.018 37	0.046 91	0
6	55.8	261	4.58	69.49	0.009 62	0.044 93	0.17
7	44.2	318.9	4.58	72.64	0.022 52	0.079 64	0.74
8	55.8	318.9	4.58	72.34	0.023 40	0.045 59	0.57
9	40	290	4.0	70.69	0.011 93	0.026 06	0.19
10	60	290	4.0	75.36	0.031 80	0.052 07	0.79
11	50	240	4.0	70.97	0.009 68	0.025 43	0.12
12	50	340	4.0	70.12	0.027 82	0.046 33	0.56
13	50	290	3.0	72.98	0.020 77	0.044 25	0.53
14	50	290	5.0	71.05	0.018 54	0.075 41	0.60
15~20	50	290	4.0	70.79	0.008 97	0.020 13	0

注: 15~20 号为重复性试验。

由响应面分析可知, 最佳炮制工艺为蜜糠用量

55.8%, 炒制温度 261 ℃, 炒制时间 3.4 min。OD 预

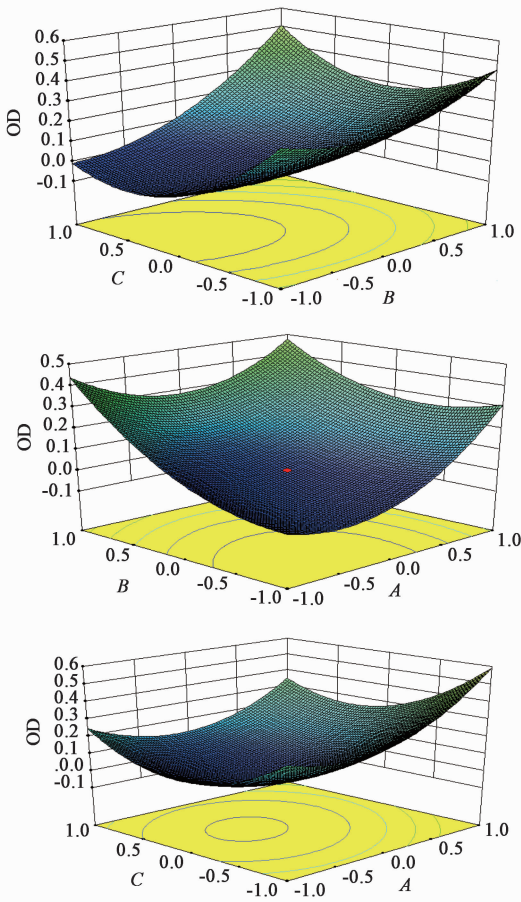


图2 蜜糠用量、炒制锅底温度、炒制时间对蜜糠炒制白术炮制工艺的影响

Fig.2 Effects of quantity of honey-bran, frying time and frying temperature on processing technology of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* frying with honey-bran

测值0.73。称取大小均匀的生白术饮片100g,共3份,按优选的炮制工艺进行验证试验,结果水浸出物质量分数分别为71.5%,72.1%,70.9%,白术内酯I质量分数0.02885%,0.02678%,0.02713%,白术内酯III质量分数0.06538%,0.07150%,0.06935%。OD分别为0.74,0.76,0.72。预测值与真实值的偏差1.4%,说明优选的炮制工艺稳定可靠。

3 讨论

白术主要成分为内酯类和挥发油类成分,其中白术内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤^[7-8]、调节胃肠道功能和促进营养物质吸收的功能,以白术内酯I作用最为明显^[9]。郝延军等^[10]曾考察白术内酯I,III的活性,发现白术内酯I能增强唾液淀粉酶的活性,故认为该成分可作为白术健脾的有效成分。容穗华等^[11]在研究白术炮制原理和炮制工艺的过程中,对生品和炮制品中白术内酯类成分和挥发油类成分的

含量进行比较,发现白术内酯I,III的含量显著升高,而燥性成分苍术酮含量却显著降低,增强了健脾作用。这主要是由于苍术酮不稳定,极易自身氧化成白术内酯I,III。故本文选择白术内酯I,III为指标成分,而水浸出物含量则作为总成分评价的参考指标。

白术为中医临床常用药,在我国北方地区一般采用麸炒炮制,而建昌帮却采用蜜糠炒制,这是建昌帮炮制的一大特色。在炒制过程中发现,采用蜜糠炒制后的白术气味清香,色泽黄润,一方面是因为蜜糠本身的特性,另一方面是因为在炒制出锅后立即摊冷,而是迅速密闭,减少了饮片气味挥发,令色泽自然转深和鲜艳。建昌帮白术健脾效果好,与麸炒白术及其他炮制方法的差别还需从化学成分、药理、药效等方面来进行对比研究。

[参考文献]

[1] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2007:429-431.

[2] 张金莲,曾昭君,潘旭兰,等. 蜜糠在建昌帮中药炮制中的应用[J]. 中草药,2013,44(21):3092-3094.

[3] 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,2008:174-176.

[4] 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:附录62.

[5] 吴伟,崔光华,陆彬. 实验设计中多指标的优化星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药学杂志,2000,35(8):530-533.

[6] Abu-lzza K, Garcia-Contreras L, Lu D R. Preparation and evaluation of sustained release AZT-loaded microspheres: optimization of the release characteristics using response surface methodology[J]. J Pharm Sci, 1996,85(2):144-149.

[7] 王世宇,付超美,刘艳. 川芎和白木挥发油的提取及包合工艺[J]. 华西药学杂志,2007,22(5):534-535.

[8] 汤得芳,郝玉行,刘佐雅,等. 平江白术根茎挥发油的成分及其抑瘤作用研究[J]. 药学通报,1984,19(9):43-46.

[9] 李伟,文红梅,张爱华,等. 白术质量标准研究I——HPLC法测定2种白术内酯的含量[J]. 药物分析杂志,2001,21(3):170-172.

[10] 郝延军,桑育黎,李宝林,等. 白术内酯I及白术内酯III对唾液淀粉酶活性的影响[J]. 时珍国医国药,2006,17(9):1617-1618.

[11] 容穗华,林海,高妮. 白术炮制工艺及炮制原理的研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(8):1001-1003.

[责任编辑 刘德文]