

# 正交试验优选苦杏仁的焯制工艺

孙飞, 王晓清, 别甜甜, 梁生旺\*  
(广东药学院中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 优选苦杏仁的焯制工艺。方法: 以苦杏仁苷含量和灭酶程度的综合评分为指标, 在单因素试验基础上, 通过正交试验考察焯制时间、加水量对苦杏仁焯制工艺的影响。采用 HPLC 测定苦杏仁苷含量, 色谱条件为 Luna 5u C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸水 (15:85), 检测波长 210 nm。结果: 苦杏仁最佳焯制工艺为焯制时间 10 min, 加水量 10 倍。结论: 优选的苦杏仁焯制工艺稳定可行, 对规范苦杏仁的焯制工艺具有一定意义。

**[关键词]** 苦杏仁; 焯制工艺; 正交试验; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.2; R281.1; R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)01-0028-03

**[doi]** 10.11653/syfy2014010028

## Optimization of Processing Technology for Armeniaca Semen Amarum by Orthogonal Test

SUN Fei, WANG Xiao-qing, BIE Tian-tian, LIANG Sheng-wang\*

(School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize processing technology of Armeniaca Semen Amarum. **Method:** With composite score of the content of amygdalin and degree of enzyme inactivation as index, based on single factor tests, orthogonal test was adopted to optimize processing technology of Armeniaca Semen Amarum by taking processing time and the amount of water as factors. The content of amygdalin was determined by HPLC, mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid water (15:85), detection wavelength at 210 nm. **Result:** The best processing technology of Armeniaca Semen Amarum was as following: processed 10 min with 10 times the amount of water. **Conclusion:** This optimized processing technology was stable and feasible, it had a certain significance to regulate processing technology of Armeniaca Semen Amarum.

**[Key words]** Armeniaca Semen Amarum; processing technology; orthogonal test; HPLC

苦杏仁具有降气止咳平喘、润肠通便之功效, 常用于治疗咳嗽气喘、胸满痰多、肠燥便秘<sup>[1]</sup>。在《中国药典》2010 年版(一部)和各省市的炮制规范中, 记载的苦杏仁炮制方法主要为焯制和炒制, 另有文献报道了苦杏仁的其他炮制方法, 如蒸制<sup>[2]</sup>、微波炮制<sup>[3]</sup>、烘制<sup>[4]</sup>等。目前, 临床应用时苦杏仁多采用焯制, 但焯

制过程中具体量化参数均不甚明确。本实验以苦杏仁苷含量和灭酶程度的综合评分为评价指标, 通过正交试验考察焯制时间、加水量对苦杏仁焯制工艺的影响, 为规范苦杏仁的焯制工艺提供依据。

### 1 材料

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津), BP211D 型 1/10 万电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。苦杏仁苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 110820-201004), 苦杏仁(购于广州市清平药材市场, 经广东药学院中药学院李书渊教授鉴定为蔷薇科植物杏 *Prunus armeniaca* L. 的干燥成熟种子), 水为超纯水, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

**[收稿日期]** 20130606(031)

**[基金项目]** 国家中医药管理局中医药行业科研专项 (201207004-7)

**[第一作者]** 孙飞, 硕士, 从事中药质量控制研究, Tel: 13751763664, E-mail: sunfeiky2011@126.com

**[通讯作者]** \* 梁生旺, 教授, 从事中药质量控制研究, Tel: 020-39352172, E-mail: swliang371@163.com

## 2 方法与结果

### 2.1 苦杏仁苷的含量测定

**2.1.1 色谱条件** Luna 5u C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸水(15:85), 柱温 35 ℃, 检测波长 210 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取适量苦杏仁苷对照品, 加 70% 甲醇制成质量浓度 40 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取苦杏仁粉末(过二号筛)约 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(250 W, 50 kHz)30 min, 放冷, 称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL 置于 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.4 线性关系的考察** 配制 0.043 16 g·L<sup>-1</sup> 的苦杏仁苷对照品溶液, 分别精密吸取 2, 4, 8, 12, 16, 20 μL 注入液相色谱仪, 按 2.1.1 项下方法测定, 以峰面积积分值为纵坐标, 对照品质量为横坐标, 得回归方程  $Y = 765\ 956X - 5\ 313.6$  ( $r = 0.999\ 9$ ), 表明苦杏仁苷在 0.086 32 ~ 0.863 2 μg 呈良好线性关系。

**2.1.5 精密密度试验** 取同一份对照品溶液, 重复进样 6 次, 进样量 10 μL, 按 2.1.1 项下方法测定, 计算峰面积的 RSD 1.07%, 表明仪器精密密度良好。

**2.1.6 稳定性试验** 取苦杏仁药材, 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 于 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 分别进样, 按 2.1.1 项下方法测定, 计算峰面积的 RSD 0.31%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.1.7 重复性试验** 取同一批苦杏仁药材 6 份, 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.1 项下方法测定苦杏仁苷含量的 RSD 1.87%, 表明该方法重复性较好。

**2.1.8 加样回收率试验** 精密量取已知含量的苦杏仁药材 0.125 g, 共 6 份, 各精密加入 1.001 g·L<sup>-1</sup> 苦杏仁苷对照品溶液 7 mL, 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.1 项下方法测定, 计算加样回收率, 结果见表 1。

**2.2 灭酶程度** 取苦杏仁样品粗粉(过二号筛)9 份, 每份约 0.25 g, 精密称定, 置具塞试管中, 加少量水浸没药粉, 将试管至于 45 ℃ 恒温水浴中酶解 10 min, 过滤, 用少量水洗涤试管, 将残渣和滤纸转移至 50 mL 具塞锥形瓶中, 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定苦杏仁苷含量,

表 1 苦杏仁苷含量测定的加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品中 质量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.124 5	6.994	13.98	99.70	101.04	1.92
2	0.125 1	7.027	14.12	101.26		
3	0.124 9	7.016	14.01	99.84		
4	0.125 3	7.039	14.35	104.34		
5	0.124 6	6.999	13.94	99.13		
6	0.125 2	7.033	14.17	101.94		

通过比较酶解前后苦杏仁苷含量的变化, 确定灭酶程度, 计算灭酶率。

$$\text{灭酶率} = \frac{\text{酶解后苦杏仁苷含量}}{\text{酶解前苦杏仁苷含量}} \times 100\%$$

**2.3 正交试验优选** 采用综合评分加权法对苦杏仁焯制工艺进行评价, 灭酶程度和苦杏仁苷含量的加权系数均为 0.5, 二者最高分均定 50 分, 以综合评分为评价指标, 通过正交试验考察焯制时间、加水量对苦杏仁焯制工艺的影响, 按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验, 因素水平见表 2, 试验安排及结果见表 3, 方差分析见表 4。

表 2 苦杏仁焯制工艺正交试验因素水平

水平	A 焯制时间/min	B 加水量/倍
1	7	10
2	10	12
3	13	15

表 3 苦杏仁焯制工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D	灭酶率 /%	苦杏仁苷 /mg·g <sup>-1</sup>	综合 评分
1	1	1	1	1	83.02	46.24	90.95
2	1	2	2	2	86.02	45.50	91.67
3	1	3	3	3	86.48	45.26	91.64
4	2	1	2	3	99.85	46.16	99.29
5	2	2	3	1	99.25	46.80	99.17
6	2	3	1	2	99.76	45.15	98.17
7	3	1	3	2	99.84	43.41	96.35
8	3	2	1	3	99.91	41.78	94.64
9	3	3	2	1	99.78	42.69	95.55
K <sub>1</sub>	91.413	95.527	94.913	95.223			
K <sub>2</sub>	98.873	95.487	95.500	95.387			
K <sub>3</sub>	95.840	95.487	95.713	95.517			
R	7.460	0.414	0.800	0.294			

表 4 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	84.448	2	81.988	<0.05
B	0.312	2	0.303	>0.05
C, D(误差)	1.03	2		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

由直观分析可知,各因素对苦杏仁焯制工艺的影响顺序为  $A > B$ 。通过方差分析发现 A 因素对综合评分具有显著性影响, B 因素则无显著性影响, 确定最佳工艺  $A_2B_1$ , 即苦杏仁的最佳焯制工艺为取净苦杏仁适量, 加入 10 倍量水于沸水锅中煮沸 10 min, 捞出至冷水中稍浸, 取出去皮, 低温干燥。

### 3 讨论

苦杏仁主要有效成分为苦杏仁苷, 具有抗肾间质纤维化、免疫调节、抗肿瘤、抗炎、抗高氧诱导肺损伤等作用<sup>[5-8]</sup>。在苦杏仁酶的作用下, 苦杏仁苷会被分解释放氢氰酸, 使苦杏仁苷含量降低。苦杏仁焯制的主要目的在于杀酶保苷, 通过高温杀酶, 最大限度的保存苦杏仁苷。

在 2010 年版《中国药典》和相关文献<sup>[9]</sup>中, 苦杏仁苷的含量测定主要采用 HPLC, 本实验参考《中国药典》2010 年版中苦杏仁项下苦杏仁苷的含量测定方法, 通过考察不同比例的流动相和不同检测波长, 确定乙腈-0.1% 磷酸水 (15: 85), 检测波长 210 nm 为最优色谱条件, 该方法简单、稳定可行。

文献报道苦杏仁焯制的水温对苦杏仁苷含量也有一定影响<sup>[10]</sup>, 但通过查阅例版《中国药典》、地方炮制规范中苦杏仁焯制方法, 发现苦杏仁焯制的水温已经明确规定为沸水, 因此未将其列为考察因素。预试验曾通过单因素试验对焯制时间进行初步筛选, 为正交试验的水平设置提供了依据。基于苦杏仁焯制的目的, 选取灭酶程度和苦杏仁苷含量

的综合评分为指标进行评价, 与传统以外观性状评价或单一以化学成分含量为指标进行评价的方法相比更加科学合理。

### [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: 187.
- [2] 周倩, 杨书斌, 孙立立, 等. 正交试验法优选蒸苦杏仁炮制工艺[J]. 中成药, 2012, 34(3): 532.
- [3] 陈俊怡, 李鑫, 贾天柱. 苦杏仁微波炮制研究[C]. 贵阳: 中华中医药学会中药炮制分会 2011 年学术年会论文集, 2011: 142.
- [4] 付志玲, 房敏峰, 王启林, 等. 烘法炮制苦杏仁工艺及影响因素研究[J]. 云南民族大学学报: 自然科学版, 2010, 19(2): 140.
- [5] 屈燧林, 方勤, 陈高翔, 等. 汉防己甲素、川芎嗪和苦杏仁甙对人肾成纤维细胞的影响[J]. 中华肾脏病杂志, 2000, 16(3): 186.
- [6] 方伟蓉, 李运曼, 钟林霖. 苦杏仁苷对佐剂性炎症影响的实验研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(3): 289.
- [7] 祝华平, 常立文, 李文斌, 等. 苦杏仁苷对高氧暴露早产鼠肺泡 II 型细胞表面活性物质蛋白 A、B、C mRNA 表达的影响[J]. 中华围产医学杂志, 2004, 7(4): 238.
- [8] YANG H Y, CHANG H K, Kim Y S, et al. Amygdalin suppresses lipopolysaccharide-induced expressions of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in mouse BV2 microglial cells[J]. Neurol Res, 2007, 29(11): 59.
- [9] 魏惠珍, 王信, 王跃生, 等. 炒苦杏仁饮片指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 71.
- [10] 张学义, 张泰来. 苦杏仁炮制方法的研究——焯法的研究[J]. 中成药研究, 1981, 4(9): 19.

[责任编辑 全燕]