

## 综合评分法优选余甘子的盐制工艺

王建科, 郭建民, 李 玮, 张 英, 周林欢, 徐 磊

贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002

**摘要:** 目的 优选盐制余甘子的炮制工艺。方法 以没食子酸、槲皮素、醇溶性浸出物和水溶性浸出物为指标, 对食盐用量、加水倍数、浸泡时间和干燥温度 4 个影响因素进行考察。采用  $L_9(3^4)$  正交试验及综合评分法优选余甘子的盐制最佳工艺。结果 优选最佳盐制工艺条件为用余甘子药材量 3% 的食盐, 加入余甘子药材 1.2 倍量的水, 浸泡 10 d, 90 °C 烘干。结论 优选出的最佳炮制工艺稳定、合理可行, 可用于指导规范化生产。

**关键词:** 余甘子; 盐制工艺; 综合评分; 没食子酸; 槲皮素

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)12-1589-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.12.013

## Optimization of salt-processing technology for *Phyllanthus emblica* by comprehensive score method

WANG Jian-ke, GUO Jian-min, LI Wei, ZHANG Ying, ZHOU Lin-huan, XU Lei

Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China

**Abstract:** **Objective** To choose the optimal salt-processing technology for *Phyllanthus emblica*. **Methods** Taking the contents of gallic acid, quercetin, ethanol soluble extraction, and water-soluble extract as the indexes, the factors of brine concentration, watering multiple, soaking time, and drying temperature were investigated.  $L_9(3^4)$  orthogonal design and comprehensive score were used to optimize the salt-processing technology for *P. emblica*. **Results** The optimal salt-processing technology was: 3% salt, adding 1.2-fold water, soaking for 10 d, and drying under 90 °C. **Conclusion** The optimal salt-processing technology is stable, reasonable, and feasible, and could be used to guide the standardization production.

**Key words:** *Phyllanthus emblica* L.; salt-processing technology; comprehensive score; gallic acid; quercetin

余甘子为大戟科植物余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 的干燥成熟果实, 具有清热凉血、消食健胃、生津止咳的功效, 用于血热血瘀、消化不良、腹胀、咳嗽、喉痛、口干等症<sup>[1]</sup>。余甘子既是中药, 也是民族药, 属药食同源的品种, 有较高食用和药用价值, 我国有苗族、藏族等 16 个民族使用该药。余甘子的炮制方法历代文献较少, 《本草纲目》记载了余甘子加工炮制的方法: “可蜜渍、盐藏, 盐而蒸之尤美”。余甘子富含鞣质, 鲜食酸甜酥脆而微涩, 回味甘甜, 盐制后不但涩味降低, 而且还能增强其清热解毒、生津止痛的作用。在民间有用一定浓度盐水浸渍果实来应用的习惯, 但浸渍时食盐的用量及浸泡时间等没有具体标准, 不便于控制盐制工艺

及其质量。药理研究证实余甘子具有抗菌、抗炎<sup>[2]</sup>、抗肿瘤<sup>[3]</sup>、抗衰老<sup>[4]</sup>等作用。槲皮素具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗癌等药理作用<sup>[5]</sup>, 《中国药典》2010 年版以没食子酸作为余甘子药材指标成分; 浸出物是衡量中药质量的一项指标<sup>[6]</sup>, 因此, 本研究采用正交试验设计及综合评分法, 以没食子酸、槲皮素、水溶性浸出物、醇溶性浸出物为指标进行研究, 优选出盐制余甘子的炮制工艺, 制定工艺参数, 用于指导生产。

### 1 仪器与材料

LC—20AT 高效液相色谱仪 (日本岛津公司), 含 SPD—20A 检测器; AUW220D 全自动电子天平 (岛津仪器苏州有限公司), HS10260D 超声波清洗

收稿日期: 2012-12-20

基金项目: 贵州省科学技术厅“贵州省中药、民族药炮制技术研究平台建设”(黔科合社字 [2009] 5001 号)

作者简介: 王建科 (1966—), 男, 高级实验师, 主要从事中药炮制研究。Tel: (0851)5652239 E-mail: wjk-66@163.com

网络出版时间: 2013-06-04 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130604.1807.010.html>

器(天津恒奥科技发展有限公司)。

甲醇、乙醇、磷酸、盐酸均为分析纯,甲醇为色谱纯,水为纯净水,对照品没食子酸(批号073-201110)、槲皮素(批号100081-200907)购于中国药品生物制品检定所。

余甘子药材采自贵州省黔西南州兴义市巴吉镇,经贵阳中医学院生药教研室董立莎教授鉴定为大戟科叶下珠属植物余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 的新鲜果实。盐制品<sup>[7]</sup>:取鲜余甘子适量,浸于浓盐水中1个月以上,以其色变淡黄或黄色为度。

## 2 方法与结果

### 2.1 余甘子中没食子酸、槲皮素的测定

**2.1.1 色谱适用性条件** Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以甲醇-0.1%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱:0~10 min, 12%甲醇;10~30 min, 60%甲醇;检测波长为273 nm;柱温30℃;体积流量1 mL/min,进样量10 μL。对照品与样品的HPLC色谱图见图1。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取干燥至恒定质量的没食子酸、槲皮素对照品适量,加甲醇溶解,制成含没食子酸1.32 mg/mL、槲皮素0.10 mg/mL的混合对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取余甘子药材、余甘子盐制品粉末1 g,精密称定,置平底烧瓶中,加入40 mL 10%盐酸-甲醇(4:1)溶液,回流提取3次,每次0.5 h,滤过,合并滤液,用0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

**2.1.4 线性关系考察** 精密吸取混合对照品溶液0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5 μL,注入液相色谱仪中,以峰面积积分值为纵坐标(*Y*),进样量为横坐标(*X*)进行线性回归,得回归方程:没食子酸  $Y=3 \times 10^6 X - 520\,004$ ,  $r=0.999\,7$ ;槲皮素  $Y=3 \times 10^6 X - 21\,864$ ,  $r=0.999\,7$ ;结果表明,没食子酸在1.32~23.1 μg,槲皮素在0.05~1.0 μg呈良好的线性关系。

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样6次。没食子酸和槲皮素峰面积的RSD分别为1.97%、1.87%,结果表明仪器精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 精密称取同一批次余甘子药材粉末6份,每份约1 g,按“2.1.3”项下供试品溶液制备方法制备,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定。没食子酸和槲皮素的平均质量分数的RSD分别为

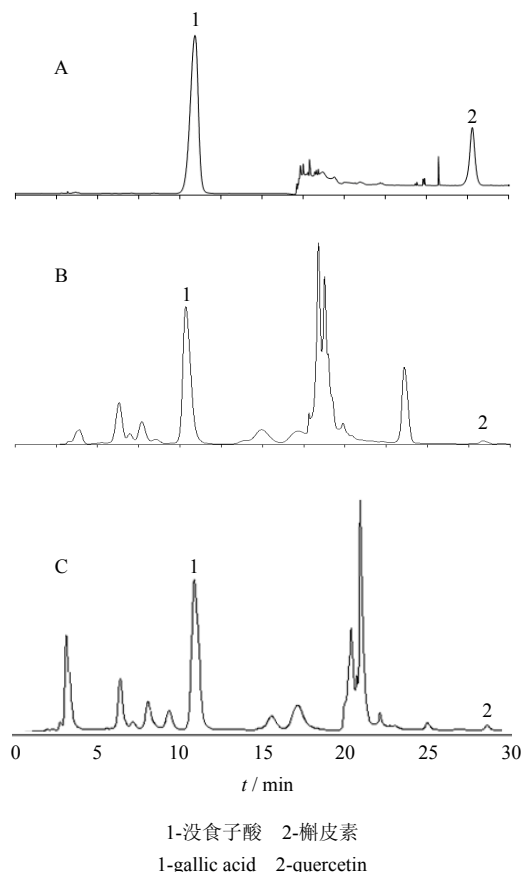


图1 混合对照品(A)、余甘子药材(B)和余甘子盐制品(C)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), *P. emblica* sample (B), and salt-processed sample (C)

1.93%、2.31%,表明该方法重复性良好。

**2.1.7 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件分别在0、2、4、6、8、10、12、14 h进样测定,没食子酸和槲皮素峰面积的RSD分别为2.23%、2.34%。结果表明供试品溶液在14 h内稳定。

**2.1.8 加样回收率试验** 精密称取同一批余甘子药材粉末6份,每份约0.5 g,加入没食子酸对照品33.465 mg、槲皮素对照品0.657 mg,按“2.1.3”项下方法制备,按“2.1.1”项下色谱条件测定。结果没食子酸的平均加样回收率为101.96%,RSD为1.99%,槲皮素的平均加样回收率为99.51%,RSD为2.07%。

**2.1.9 样品测定** 精密称取各样品粉末约1 g,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定,外标法计算,即得。

### 2.2 醇溶性浸出物测定

参照《中国药典》2010年版一部的醇溶性浸出

物项下热浸法测定,以50%乙醇为溶剂。

### 2.3 水溶性浸出物测定

参照《中国药典》2010年版一部的水溶性浸出物项下热浸法测定。

### 2.4 盐制工艺优选

**2.4.1 单因素考察** 以没食子酸、槲皮素的量为指标,通过对食盐用量(A)、加水倍数(B)、浸泡时间(C)及干燥温度(D)进行考察,结果以食盐用量为5%、加水倍数为1倍、浸泡时间为15 d、干燥温度为100℃时最佳。

**2.4.2 正交试验** 根据“2.4.1”项下单因素考察结果,各因素选取3个水平进行试验,选用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,试验设计及结果见表1。

取9份均匀新鲜的余甘子药材各350 g,按表1正交试验设计,加入不同用量的食盐及不同倍数的清水,浸泡一定时间,取出,再在不同温度下干燥,即得9份余甘子盐制样品。粉碎过40目筛。

对正交试验结果进行综合评分,根据所测成分

在余甘子中的重要性,考虑没食子酸占35%,槲皮素占35%,醇浸出物占15%,水溶性浸出物占15%的权重。综合分数=没食子酸隶属度 $\times$ 35%+槲皮素隶属度 $\times$ 35%+醇浸出物隶属度 $\times$ 15%+水浸出物隶属度 $\times$ 15%[隶属度=(指标值-指标最小值)/(指标最大值-指标最小值)],满分为1.00。综合评分结果见表1。

经直观分析可知,干燥温度的 $R$ 最小,将其列为误差项进行方差分析(表2),分析结果为食盐用量、加水量、浸泡时间的 $P$ 值均 $>0.05$ ,表明各因素对试验结果均无显著性影响。在优选盐制工艺时,从节约能源、便于操作、外观性状(指饮片外观性状,虽然直观分析在100℃温度下干燥最好,但饮片的外部颜色较深、略有焦糊现象,影响饮片的色泽;再者,方差分析结果表明无显著性差异,因此,选用90℃温度干燥)等角度综合考虑,盐制余甘子优选的最佳工艺为用余甘子药材量3%的食盐,加入余甘子药材1.2倍量的水,浸泡10 d,90℃烘干。

表1  $L_9(3^4)$  正交试验设计及结果

Table 1 Design and results of  $L_9(3^4)$  orthogonal test

| 试验号   | A/%  | B/倍    | C/d   | D/℃    | 没食子酸/% | 槲皮素/% | 水浸出物/% | 醇浸出物/% | 综合评分 |
|-------|------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|------|
| 1     | 3(1) | 0.8(1) | 10(1) | 90(1)  | 6.01   | 0.19  | 47.43  | 44.37  | 0.81 |
| 2     | 3(1) | 1.0(2) | 15(2) | 100(2) | 6.74   | 0.18  | 43.04  | 41.34  | 0.56 |
| 3     | 3(1) | 1.2(3) | 20(3) | 110(3) | 7.42   | 0.17  | 43.54  | 39.47  | 0.56 |
| 4     | 5(2) | 0.8(1) | 15(2) | 110(3) | 7.03   | 0.15  | 43.60  | 41.06  | 0.41 |
| 5     | 5(2) | 1.0(2) | 20(3) | 90(1)  | 4.49   | 0.16  | 46.11  | 45.49  | 0.44 |
| 6     | 5(2) | 1.2(3) | 10(1) | 100(2) | 7.23   | 0.19  | 46.84  | 46.05  | 0.89 |
| 7     | 7(3) | 0.8(1) | 20(3) | 100(2) | 5.27   | 0.14  | 44.92  | 44.89  | 0.31 |
| 8     | 7(3) | 1.0(2) | 10(1) | 110(3) | 7.17   | 0.14  | 45.25  | 43.48  | 0.49 |
| 9     | 7(3) | 1.2(3) | 15(2) | 90(1)  | 3.83   | 0.17  | 47.58  | 46.85  | 0.50 |
| $K_1$ | 1.93 | 1.53   | 2.19  | 1.75   |        |       |        |        |      |
| $K_2$ | 1.74 | 1.49   | 1.47  | 1.76   |        |       |        |        |      |
| $K_3$ | 1.30 | 1.95   | 1.31  | 1.46   |        |       |        |        |      |
| $R$   | 0.63 | 0.46   | 0.88  | 0.30   |        |       |        |        |      |

表2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

| 方差来源  | 离差平方和 | 自由度 | $F$ 值 | 显著性 |
|-------|-------|-----|-------|-----|
| A     | 0.070 | 2   | 3.684 | 无   |
| B     | 0.043 | 2   | 2.263 | 无   |
| C     | 0.146 | 2   | 7.684 | 无   |
| D(误差) | 0.019 | 2   |       |     |

$$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$$

**2.4.3 工艺验证** 取3份余甘子药材,每份1 000 g,照上述确定的最佳工艺条件制成盐制余甘子,再参照“2.1”、“2.2”、“2.3”项下方法,分别测定每份盐制余甘子中没食子酸、槲皮素、醇浸出物、水浸出物的量。结果见表3。可以看出,3次结果的差异较小,表明该工艺稳定可行。

### 3 讨论

本实验以食盐用量、加水倍数、浸泡时间、干

表3 工艺验证

Table 3 Technology verification

| 批次 | 没食子酸 /<br>% | 槲皮素 /<br>% | 醇浸出物 /<br>% | 水浸出物 /<br>% |
|----|-------------|------------|-------------|-------------|
| 1  | 7.021       | 0.165      | 50.148      | 49.764      |
| 2  | 7.224       | 0.170      | 49.724      | 49.987      |
| 3  | 7.005       | 0.161      | 49.496      | 48.875      |

燥温度为考察因素进行正交设计,以没食子酸、槲皮素、水溶性浸出物、醇溶性浸出物的量为指标,对试验结果进行综合评分,对盐制余甘子的最佳炮制工艺进行优选,筛选出最佳工艺为用余甘子药材量3%的食盐,加入余甘子药材1.2倍量的水,浸泡10 d,90℃烘干。多指标综合评定盐制余甘子的最佳炮制工艺,符合中药“一药多效”的用药特点。通过验证试验表明其盐制工艺稳定可行,为将来制定盐制余甘子的饮片质量标准提供了参考依据,为更深入研究余甘子药材及其应用打下基础。

采用HPLC法建立测定余甘子药材中没食子酸和槲皮素的定量方法,该方法操作简便,快捷,结果准确可靠,可用于余甘子药材中没食子酸和槲皮素的定量测定。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 骆永珍,朱征雄,杨志英,等. 中药余甘子果的抗菌作用观察 [J]. 成都中医学院学报, 1981(4): 63-65.
- [3] 侯开卫,刘凤书,杨臣武. 余甘子对强致癌物 *N*-亚硝基化合物在人体内合成的阻断作用 [J]. 林业科学研究, 1989, 2(1): 55-58.
- [4] 侯开卫,刘凤书,李绍家,等. 余甘果抗衰老作用的研究 [J]. 食品科学, 1991(3): 2-5.
- [5] 孙涓,余世春. 槲皮素的研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(3): 85-88.
- [6] 龚千峰. 中药炮制学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007.
- [7] 田华咏,瞿显友,熊鹏辉. 中国民族药炮制集成 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 2009.