

正交试验优选阿胶、龟甲胶、鹿角胶的微波炮制胶珠工艺的研究

程一帆, 苟 虹, 谭淇文

(重庆市中医研究院, 重庆 400021)

摘 要:目的 优选微波炮制阿胶、龟甲胶、鹿角胶胶珠的工艺参数, 规范胶类药材制珠工艺, 提高并稳定胶珠质量。方法 用多项指标评价胶珠质量, 采用 $L_4(2^3)$ 正交优选法对炮制胶珠工艺参数进行筛选。结果 获得了阿胶、龟甲胶、鹿角胶优化的炮制胶珠工艺参数。结论 不同种类的胶材或不同批号、不同生产厂家的同类胶材都有其最适的工艺参数, 可用正交试验优选法快速筛选。

关键词: 阿胶; 龟甲胶; 鹿角胶; 微波炮制; 正交试验

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)01-0045-04

Orthogonal optimization of plastic beads microwave processing of *Colla Corii Asini*, *Colla Carapacis et Plastris Testudinis*, and *Colla Cornus Cervi*

CHENG Yi-fan, GOU Hong, TAN Qi-wen

(Chongqing Institute of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400021, China)

Abstract : Objective *Colla Corii Asini*, *Colla Carapacis et Plastris Testudinis*, *Colla Cornus Cervi*, three types of plastic bead microwave process parameters were optimized in order to standardize the production of the types of plastic beads and to enhance the stability of the quality of plastic beads. **Methods** Using a number of quality indicators to evaluate the quality of plastic beads and orthogonal test to optimize the plastic bead process parameters. **Results** The microwave process parameters of *Colla Corii Asini*, *Colla Carapacis et Plastris Testudinis*, *Colla Cornus Cervi*, three types of plastic beads were obtained through orthogonal optimization. **Conclusion** Different types of plastic type drugs, different production lot, and different manufacturers of similar plastic herbs have their own optimum process parameters. $L_4(2^3)$ orthogonal optimization can be used to screen out the plastic type drugs rapidly.

Key words : *Colla Corii Asini*; *Colla Carapacis et Plastris Testudinis*; *Colla Cornus Cervi*; microwave process; orthogonal test

阿胶、龟甲胶、鹿角胶是《中国药典》2005 年版一部收载的胶类药材,也是中医临床常用胶类药材。胶类药材的炙珠自汉代起历经千年,是我国独特的制药技术,至今仍以直火加热、手工操作为主,炙珠时火候及胶珠的品质均凭操作者的感观和经验予以掌控和判断。要把炙珠时出现的色泽不一、表面焦糊、质地不疏松、溏心等控制在较稳定的范围,传统的炙珠方法是难以掌控的。20 世纪末对阿胶的炙珠工艺及设备改革有了较多的研究^[1-3]。笔者在对阿胶、龟甲胶、鹿角胶炙珠工艺的规范及胶珠质量标准的研究中发现,用微波炮制的 3 种胶珠质量均优于其他普通热传导方式设备的胶珠质量,并可借助

$L_4(2^3)$ 正交试验方法有效快速筛选最适工艺参数来实现胶珠质量的稳定。

1 仪器与药材

WD800 (MG—5304DS) 型微波炉 (LG 电子电器有限公司);梅特勒-托利多 AE200 电子分析天平 (上海梅特勒厂);UV—752 型紫外可见分光光度计 (上海电子光学技术研究所);CS101 型电热干燥箱 (重庆试验设备厂);80—2 型离心沉淀器 (上海手术器械厂);HHS112—B 型电热恒温水浴 (上海医疗器械五厂);凯氏定氮装置。

阿胶,山东东阿阿胶股份有限公司,批号 061228;龟甲胶,河南老君堂制药有限公司,批号

收稿日期:2009-03-12

基金项目:重庆市卫生局科研项目 (2005-B-08)

作者简介:程一帆 (1963—),女,四川大竹人,主任药师,贵阳医学院硕士生导师,重庆市中医药学会中药专家委员会副主任委员,重庆市卫生技术评审委员会委员,重庆中医医疗机构等级评审专家组成员,1985 年毕业于成都中医药大学药系,研究方向为中药新技术应用、医院药学。Tel:13752834399 E-mail:dzx-1963@126.com

040118;鹿角胶,河南老君堂制药有限公司,批号 041221。3 种胶材均购于重庆市中药材公司,由成都中医药大学冷静博士按《中国药典》2005 年版一部各药材的鉴别项下方法进行鉴定,结果符合规定。明胶,天津市大茂化学试剂厂,批号 070412。

2 方法与结果

2.1 试验设计因素水平的确定:因素的选择是建立在炮制实践经验和前期单因素比较试验基础之上的。微波炮制胶珠的预试验显示阿胶、龟甲胶、鹿角胶均可选择高微波强度,其炙珠的工艺效果明显优于中、低强度的微波,加热时间 6~8 min,胶丁大小 6~10 mm。因此考察微波强度只需设 100%、80% 水平,选用 $L_4(2^3)$ 正交表。借助 $L_4(2^3)$ 正交方法对预试验获得的较高评价值的因素进一步优选,不仅可大大减少试验数和工作量,而且有利于实际炮制的应用。以微波强度、时间、胶丁大小为考察因素,每个因素取 2 个水平,见表 1。

表 1 因素与水平
Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A 微波强度/%	B 时间/min	C 胶丁大小/mm
1	100	6	6
2	80	8	10

2.2 胶珠质量指标及评分标准:以性状、水不溶物和胶原蛋白的量来评价胶珠的质量。水不溶物的测定按《中国药典》2005 年版一部附录方法^[2];胶原蛋白的测定采用紫外分光光度法^[4],其标准品明胶的蛋白质测定按照《中国药典》2005 年版一部附录

L 氮测定法测定,由重庆中药研究院,重庆市中医研究院共同测定,含氮量测定值为 15.6%。综合评分标准为:性状占 30%,性状评分以外观、质地、气味进行评价,性状评分见表 2;水不溶物占 30%;蛋白质的量占 40%。其中水不溶物以最小者定为 100 分,蛋白质的量以最高者定为 100 分,其他试验结果与其相比较计分,3 项测定得分相加,则为各项试验的综合得分。

表 2 性状评分

Table 2 Character score

评分	外观	质地	气味
9 分	圆整均匀黄色	蜂窝状,无渣心	气香,味淡
6 分	较圆整、色深、偶有焦斑	部分未酥脆、偶有渣心	气较香
3 分	棕黄色、较多焦斑	较多部分未酥脆、较多渣心	气淡、有焦糊味

2.3 胶珠的制备:取阿胶、龟甲胶、鹿角胶,经干燥箱 80℃ 烘软后,按表 1 的设计切丁。分别取阿胶丁、龟甲胶丁、鹿角胶丁约 50 g,均匀平铺于微波炉

的器皿中(以相互间有约 1 cm 间距为宜),将器皿置于炉内架子上,按 $L_4(2^3)$ 设计的试验选择微波强度、炙珠时间、胶丁大小,进行炙珠。

2.4 胶珠的性状检测:按表 2 胶珠性状评分表对 3 种胶珠的性状、颜色、质地、气、味等指标进行检查和质量认定。

2.5 胶珠的水不溶物检测:分别精密称取阿胶珠、龟甲胶珠、鹿角胶珠各 1.0 g,照《中国药典》2005 年版一部阿胶、龟甲胶、鹿角胶项下的水不溶物检测方法进行测定。

2.6 胶珠的胶原蛋白检测:胶原蛋白是胶类药材比较明确的主要有效成分之一。蛋白质的测定一般采用氮测定法。试验对胶材中蛋白质的测定方法学研究发现,采用紫外分光光度法测定胶原蛋白更能反映炮制成胶珠后蛋白质变化的实际情况,不但方法可靠且较简便快速,更适用于炮制生产中的质量检测。

2.6.1 明胶标准溶液的制备:取已恒重的明胶 100 mg,精密称定,置 100 mL 量瓶中加纯化水至刻度,摇匀,即得。

2.6.2 胶珠溶液的制备:取胶珠粉 100 mg,精密称定,置 100 mL 量瓶中加纯化水至刻度,摇匀,即得。

2.6.3 标准曲线的绘制:精密量取明胶标准溶液 0.00、0.20、0.40、0.60、0.80 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀。以纯化水为空白对照,照分光光度法分别在 215、225 nm 波长处测定吸光度(A)值,以吸光度差值($\Delta A = A_{215} - A_{225}$)为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,将所得数据回归计算,得回归方程 $Y = 0.0156X + 0.0280$, $r = 0.9978$,线性范围为 20~80 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.6.4 测定:精密吸取胶珠制备溶液 0.4 mL,置 10 mL 量瓶中,照标准曲线的绘制项下的方法,测定 ΔA 值,从回归方程计算蛋白质值的量,即得。

2.7 试验结果及方差分析:胶珠的性状结果见表 3,正交试验结果见表 4,方差分析见表 5。

结果显示,直观得出各因素对试验结果的影响程度是 $A > B > C$ 。在给定的显著性水平中,通过和 F 分布统计量的概率比较,可得出微波强度和时间对胶珠品质有显著影响($P < 0.05$)。100% 的强微波适于阿胶、龟甲胶、鹿角胶的胶珠炮制,可获得较好的胶珠质量。胶丁的体积对胶珠品质的影响小,在 6~10 mm 选择胶丁切制的规格,以炮制成胶珠后的体积适于服用、包装为宜。

表 3 胶珠性状评价表

Table 3 Characters of plastic bead

胶珠	试验号	性状	得分
阿胶珠	1	外圆整、色浅黄棕;内呈蜂窝状,偶有漈心;气香味淡。	8
	2	外圆整、色黄棕;内呈蜂窝状无漈心;气香味淡。	8
	3	外较圆整、色黄棕;内部分未酥脆;气香味淡。	7
	4	外圆整、色黄棕、色不均;内呈蜂窝状,无漈心;气香味淡。	8
龟甲胶珠	1	外圆整、色黄且均匀;内呈蜂窝状无漈心;味淡。	9
	2	外较圆整、色浅黄棕;内未充分膨胀有少量漈心;味淡。	6
	3	外较圆整、色黄、部分色泽不均;内部分未酥脆无漈心;味淡。	7
	4	外较圆整、色黄棕且部分色泽不均;内未充分膨胀;味淡。	7
鹿角胶珠	1	外较圆整、色浅棕、偶色泽不均;少数内未充分膨胀;味淡。	7
	2	外圆整、色浅棕;内呈蜂窝状无漈心;味淡。	9
	3	外较圆整、色棕;内未充分膨胀无漈心;味淡。	7
	4	外圆整、色棕;内呈蜂窝状无漈心;味淡。	8

表 4 胶类药材正交试验结果分析

Table 4 Results of $L_4(2^3)$ orthogonal test analysis

药材种类	试验号	A	B	C	评价指标			
					性状	水不溶物/ %	蛋白质/ %	综合评分
阿胶	1	1	1	1	8	0.69	94.70	96.67
	2	2	1	2	8	0.84	92.30	90.29
	3	1	2	2	7	0.74	93.34	90.72
	4	2	2	1	8	0.95	91.62	87.16
龟甲胶	1	1	1	1	9	0.66	90.10	99.00
	2	2	1	2	6	0.79	92.40	85.06
	3	1	2	2	7	0.77	89.22	87.66
	4	2	2	1	7	1.01	92.40	82.93
鹿角胶	1	1	1	1	7	1.74	93.02	81.83
	2	2	1	2	9	1.37	94.32	94.26
	3	1	2	2	7	1.70	93.74	85.58
	4	2	2	1	8	1.12	94.95	96.67
阿胶	K_1	187.39	186.96	183.83				
	K_2	177.45	177.88	181.01				
	R	9.94	9.08	2.82				
龟甲胶	K_1	186.66	184.06	181.93				
	K_2	167.99	170.59	172.72				
	R	18.67	13.47	9.21				
鹿角胶	K_1	167.41	176.09	178.50				
	K_2	190.93	182.25	179.84				
	R	23.52	6.16	1.34				

表 5 方差分析

Table 5 Analysis of variance

胶材种类	方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
阿胶	A	24.70	2	12.35	1.235	$P < 0.05$
	B	20.60	2	10.30	1.030	$P < 0.05$
	C	1.98	2	0.99	99	
龟甲胶	A	87.14	2	43.57	4.357	$P < 0.05$
	B	45.36	2	22.68	2.268	$P < 0.05$
	C	21.20	2	10.60	1.060	$P < 0.05$
鹿角胶	A	138.30	2	69.15	6.915	$P < 0.05$
	B	9.48	2	4.74	474	$P < 0.05$
	C	0.45	2	0.22	22	
	e	0.01	1	0.01		

 $F_{0.05}(2,1) = 200$

3 讨论

在研究中发现,不同胶材,不同的生产厂家或同一厂家生产的同种胶材因批号不同其含水量也可能不同。不同的微波设备或同一微波设备其微波强度也可能受外环境温湿度、使用次数、微波强度的衰减等因素的影响而变化。因此,微波炮制胶珠的最佳工艺条件并不是固定不变的。当 100 % 的强微波和胶丁规格已确定,在炮制胶珠前可通过少量试验来选择最适合的时间参数才能保证胶珠的质量稳定,也有利于胶珠质量标准的制定与统一。

微波技术用于阿胶、龟甲胶、鹿角胶的炙珠是胶

类药材炙珠的代表性应用。这种可靠的、低成本、高效、环保的炮制胶珠的方法也可在其他中药胶材中推广应用。

参考文献:

[1] 张保国. 阿胶的现代炮制研究[J]. 河南大学学报:医学科学

版,2003,2(2):1-4.

[2] 中国药典[S]. 一部. 2005.

[3] 李光甫,任玉珍. 中药炮制工程学[M]. 北京:化学工业出版社,2007.

[4] 樊绘曾,刘或曦. 阿胶蛋白质定量方法的比较[J]. 中国中药杂志,1994,19(4):224.

六味地黄丸的 HPLC 指纹图谱和模式识别研究

赵洪芝^{1,2}, 孟宪生^{3*}, 叶挺祥^{1,2}, 刘征辉^{1,2}, 程 奕^{1,2}, 罗国安³

(1. 天津海世达检测技术有限公司, 天津 300381; 2. 天津市现代中药质量检验中心, 天津 300381;

3. 清华大学 化学系, 北京 100084)

摘要:目的 研究六味地黄丸的质量控制方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Agilent Zorbax SB C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 乙腈-水梯度洗脱, 柱温:30℃, 体积流量:1.0 mL/min, 检测波长为 236 nm, 并利用聚类分析法和主成分分析法分析结果。结果 通过聚类分析将不同厂家和批次的 25 个样品分为 3 类, 不同剂型的六味地黄制剂 HPLC 指纹图谱存在明显的差异。主成分分析分类结果与聚类分析分类结果一致, 经主成分分析, 8 个共有峰可综合为 3 个主成分, 其累积贡献率达 82.844%, 马钱苷的相对峰面积为六味地黄丸指纹图谱中影响比较大的指标。结论 此方法可较系统地用于六味地黄丸的质量控制。

关键词:六味地黄丸; 指纹图谱; 模式识别

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)01-0048-04

HPLC Fingerprint and chemical pattern recognition of Liuwei Dihuang Pills

ZHAO Hong-zhi^{1,2}, MENG Xian-sheng³, YE Ting-xiang^{1,2}, LIU Zheng-hui^{1,2},

CHENG Yi^{1,2}, LUO Guo-an³

(1. Tianjin High-standard Quality Testing Laboratory, Tianjin 300381, China; 2. Tianjin Center for Quality Testing of TCM, Tianjin 300381, China; 3. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract : Objective To establish a method for the quality control of Liuwei Dihuang Pills. **Methods** HPLC Method was developed to establish the fingerprint of Liuwei Dihuang Pills. The separation was performed on Agilent Zorbax SB C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column gradient eluted with the mobile phase consisting acetonitrile and water at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was 236 nm. Hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) were applied to investigating the test data. **Results** The HCA result showed that 25 samples from various manufacturers and various batches can be divided into three groups. The differences between various dosage forms could be obvious. The classification result according to PCA was consistent with the HCA. The PCA showed that eight common peaks were integrated into three principal components (PC) and their accumulation contributing rate amounted to 82.844%. The PCA result showed that the relative peak area of loganin was the discriminating factor of the fingerprint of Liuwei Dihuang Pills. **Conclusion** This method can be used for quality control for Liuwei Dihuang Pills.

Key words : Liuwei Dihuang Pills; fingerprint; chemical pattern recognition

收稿日期:2009-03-10

基金项目:天津市科技发展计划项目(05SYSGX25000)

作者简介:赵洪芝(1981—),女,硕士,助理研究员,主要从事中药质量控制及化学计量学方面的研究。

Tel: (022) 27950255 Fax: (022) 27950378 E-mail: zhao_hong_zhi@126.com

*通讯作者 孟宪生 Tel: (010) 62772263 Fax: (010) 62781688 E-mail: mxsvvv@126.com