

## 均匀设计优化菟丝子的盐炙工艺研究

李春雨<sup>1</sup>, 赵国斌<sup>2</sup>, 张玉红<sup>2</sup>, 王 树<sup>1</sup>, 薛贵平<sup>1</sup>, 张丹参<sup>1\*</sup>

1. 河北北方学院, 河北 张家口 075000

2. 河北北方学院附属第一医院, 河北 张家口 075000

**摘要:** 目的 以总黄酮、总多糖的质量分数以及水、醇浸出物为指标优化菟丝子盐炙工艺。方法 采用均匀试验设计, 利用紫外分光光度法测定总黄酮、总多糖的量, 通过逐步非线性回归和等值线图优化炮制工艺。结果 菟丝子最佳盐炙工艺为加盐量 2%, 闷润时间 60 min, 烘制温度 170 °C, 烘制时间 60 min。结论 均匀设计和回归分析可以对实验结果进行高精度的预测, 表明菟丝子盐炙工艺可行。

**关键词:** 菟丝子; 炮制; 盐炙工艺; 均匀设计; 回归分析

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)08-1537-04

## Optimization of salt stir-baking technology for *Cuscutae Semen* by uniform design

LI Chun-yu<sup>1</sup>, ZHAO Guo-bin<sup>2</sup>, ZHANG Yu-hong<sup>2</sup>, WANG Shu<sup>1</sup>, XUE Gui-ping<sup>1</sup>, ZHANG Dan-shen<sup>1</sup>

1. Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

2. The First Affiliated Hospital, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

**Abstract: Objective** To optimize the preparation technology of *Cuscutae Semen* herb stir-baking process with salt, taking the contents of total flavonoids and polysaccharides and the percentage of water and alcohol-soluble components as indexes. **Methods** UV-spectrophotometry and uniform design were applied to determine the contents of total flavonoids and polysaccharides which were extracted from *Cuscutae Semen*. And the stir-baking process with salt was optimized by nonlinear regression and contour map. **Results** The best preparation technology was satisfied with some conditions as follows: its adding salt 2%, immersing time 60 min, baking temperature 170 °C, and baking time 60 min. **Conclusion** The uniform design and regression analysis are notable and reasonable, which could precisely forecast the results.

**Key words:** *Cuscutae Semen*; processing; salt-stir-baking process; uniform design; regression analysis

菟丝子始载于《神农本草经》,列为上品,是常用补益中药,具有补肾益精、养肝明目、安胎之功效<sup>[1]</sup>,其主要成分有黄酮、多糖、糖苷、氨基酸及微量元素等<sup>[2-3]</sup>。由于其质地坚硬,不利于粉碎和煎煮出有效成分,故临床多以炮制品入药。菟丝子历代炮制方法很多,有黄精汁浸、盐炒、酒蒸、酒浸炒、清炒等十余种。现行,有清炒、盐水炒、酒炒、盐水拌蒸、制饼等炮制方法。现代研究也取得一定进展,张素茂<sup>[4]</sup>以浸出率为指标研究高压蒸煮法炮制菟丝子的可行性。曾诤等<sup>[5]</sup>以总黄酮为指标,比较了盐炙、酒炙、炒黄 3 种炮制方法。李波等<sup>[6]</sup>采用正交设计以总黄酮为指标优选了菟丝子黄酒炮制工艺。田树革等<sup>[7]</sup>对菟丝子盐炙品及 100~160 °C

的烘制品中黄酮及多糖的量进行了比较研究。黄继全<sup>[8]</sup>对菟丝子的生品、不同方法炮制品的水浸出物做了比较研究。《中药大辞典》中有炒制、制饼、盐炙、酒炙、酒制饼等炮制方法,《中国药典》2010 年版一部收录的盐炙炮制方法为主流炮制工艺,但是仅有菟丝子盐炙的要求和鼓起、香气等经验指标,没有盐菟丝子饮片客观科学的炮制工艺和质量标准,并且炒制法温度不易控制,易焦糊,故本实验以烘箱烘制法代替炒制法,采用均匀试验设计优化菟丝子盐炙工艺,为合理利用菟丝子的炮制品提供依据。

### 1 仪器与材料

UV—2100 紫外可见分光光度计(北京莱伯泰

收稿日期: 2010-11-01

作者简介: 李春雨(1979—),女,讲师,研究方向为中药新剂型及炮制学研究。Tel: 13831391827 E-mail: chunyu\_li@126.com

\*通讯作者 张丹参 Tel: (0313)8041659 E-mail: danshen\_zhang@yahoo.com.cn

科仪器有限公司); 102—3 型远红外线快速干燥箱(北京兴争仪器设备厂); JN—5200D 超声波清洗器(宁波江南仪器厂); DF—II 集热式磁力加热搅拌器(金坛市医疗仪器厂); SHZ—D (III) 循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂)。

菟丝子购自河北安国药材市场, 经河北北方学院药学教研室高级实验师薛贵平鉴定为旋花科植物菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的干燥成熟种子。

芦丁(批号 100080-200707)、葡萄糖(批号 110833-200503)对照品均购自中国药品生物制品检定所; 盐(批号 20090212, 中盐河北盐业专营有限公司); 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 均匀试验设计

菟丝子盐炙工艺考虑的因素有加盐量( $X_1$ )、闷润时间( $X_2$ )、烘制温度( $X_3$ )、烘制时间( $X_4$ ), 以总黄酮、总多糖、水浸出物、醇浸出物为指标, 每个因素安排 9 个水平, 应用  $U_9(9^4)$  均匀设计表安排试验, 因素水平见表 1。

表 1 因素与水平  
Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	$X_1/\%$	$X_2/\text{min}$	$X_3/^\circ\text{C}$	$X_4/\text{min}$
1	0.5	60	90	60
2	1.0	90	100	60
3	1.5	120	110	60
4	2.0	150	120	90
5	2.5	180	130	90
6	3.0	210	140	90
7	3.5	240	150	120
8	4.0	270	160	120
9	4.5	300	170	120

### 2.2 药材炮制操作过程

取净菟丝子药材 9 份, 每份 100 g, 各加 70 mL 不同浓度的食盐水溶液拌匀、浸泡不同时间, 待盐水吸尽后, 然后置于设定不同温度的恒温箱中加热, 待达到规定的时间后, 取出放凉, 粉碎过 60 目筛, 备用。

### 2.3 总黄酮的测定

**2.3.1 对照品溶液的制备** 精密称取 105 °C 干燥至恒定质量的芦丁对照品 10.4 mg 置 50 mL 量瓶中, 加乙醇适量, 稍加热助溶, 并稀释至刻度, 摇匀,

即得。

**2.3.2 供试品溶液制备** 精密称取 60 °C 干燥的菟丝子盐炙品粉末 1 g, 加 95% 乙醇 30 mL, 超声提取 1 h, 滤入 50 mL 量瓶中, 残渣以 95% 乙醇 5 mL 洗涤 3 次, 合并滤液至量瓶中, 加 95% 乙醇至刻度。

**2.3.3 线性关系考察** 精密吸取芦丁对照品溶液 0、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 加 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min; 加入 10% 硝酸铝溶液 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加入 5% 氢氧化钠溶液 4 mL, 再用水稀释至刻度, 摇匀, 放置 15 min。502 nm 处测定吸光度( $A$ )值, 以  $A$  值为横坐标, 质量浓度为纵坐标进行线性回归, 得回归方程  $Y=89.001 X-2.318$ ,  $r=0.999 1$ , 结果表明芦丁在 20.8~72.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  线性关系良好。

**2.3.4 精密度试验** 取表 2 中 1 号样品, 按供试品溶液制备及测定法操作, 于 502 nm 处连续测定  $A$  值 6 次, 计算得  $A$  值的 RSD 为 1.3%。

**2.3.5 稳定性试验** 取表 2 中 1 号样品, 制备供试品溶液, 分别在 0、15、30、45、60、75 min 依法测定, 计算得  $A$  值的 RSD 为 2.12%, 表明供试品溶液在 75 min 内稳定。

**2.3.6 重现性试验** 取表 2 中 1 号样品 6 份, 按供试品溶液制备及测定法操作, 计算得菟丝子总黄酮质量分数的 RSD 为 2.31%。

**2.3.7 加样回收率试验** 取表 2 中 1 号样品共 6 份, 每份 0.5 g, 精密称定, 分别精密加入对照品溶液 1.0 mL, 制备供试品溶液, 依法测定, 计算平均回收率为 100.2%, RSD 为 2.24%。

**2.3.8 样品测定** 取各样品制备供试品溶液, 依法测定, 外标法计算总黄酮的质量分数, 结果见表 2。

### 2.4 多糖的测定<sup>[7]</sup>

**2.4.1 对照品溶液的制备** 精密称取 105 °C 干燥至恒定质量的无水葡萄糖对照品 15.2 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加适量蒸馏水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.4.2 线性关系考察** 精密量取葡萄糖对照品溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL 分别置 10 mL 具塞试管中, 加蒸馏水至 2.0 mL, 摇匀, 再加苯酚试液 1.0 mL, 摇匀, 迅速加入 98% 浓硫酸 5.0 mL, 摇匀, 放置 5 min, 加水补至 10 mL, 置沸水浴中加热 15 min 后, 取出冷却至室温, 于 492 nm 处测定  $A$  值。以  $A$  值为横坐标, 质量浓度为纵坐标进行线性回归, 得到回归方程  $Y=119.89 X-$

6.28,  $r=0.999\ 6$ , 表明葡萄糖在 12.16~85.12  $\mu\text{g}/\text{mL}$  线性关系良好。

**2.4.3 样品测定** 将提取总黄酮后的残渣及滤纸置烧瓶中, 加水 60 mL, 置沸水浴中加热回流 1 h, 趁热滤过, 残渣及烧瓶用热水洗涤 4 次, 每次 5 mL, 合并滤液与洗液, 放冷, 转移至 100 mL 量瓶中, 加

水至刻度, 摇匀, 精密量取 0.3 mL, 置 10 mL 具塞干燥试管中, 按“2.4.2”项下方法, 依法测定  $A$  值, 代入回归方程计算即得。结果见表 2。

**2.5 水、醇浸出物的测定**

参照《中国药典》2010 年版一部附录 X A 项下热浸法进行测定, 结果见表 2。

表 2 均匀试验设计及结果  
Table 2 Uniform test design and results

试验号	$X_1/\%$	$X_2/\text{min}$	$X_3/^\circ\text{C}$	$X_4/\text{min}$	总黄酮/%	总多糖/%	水浸出物/%	醇浸出物/%
1	1.5	270	100	60	2.57	17.73	33.3	13.9
2	4.0	90	160	60	2.60	23.71	33.2	13.9
3	1.0	180	150	120	2.58	25.13	27.4	11.7
4	3.0	210	140	60	2.59	18.85	38.6	15.5
5	4.5	240	120	120	1.87	21.73	35.7	16.8
6	3.5	150	90	90	2.08	18.51	29.1	17.0
7	2.5	300	170	90	2.49	18.71	34.4	14.7
8	2.0	60	110	120	2.70	18.70	33.0	15.3
9	0.5	120	130	90	2.62	24.43	33.7	12.9

**2.6 数据分析**

采用中国均匀设计学会和东北制药总厂共同研制的“均匀设计软件包”处理数据, 将实验结果通过二次多项式逐步非线性回归, 建立回归模型与拟和对比图进行分析, 得到 4 个回归方程: 总黄酮  $Y_1=1.74+0.014\ 5\ X_3+1.47\times 10^{-3}\ X_1X_3-0.046\ 6\ X_1^2+1.45\times 10^{-4}\ X_4^2$ ,  $r=0.997\ 8$ ,  $P<0.02$ ,  $F=76.8$ ,  $F_{0.02}(6, 2)=49.33$ , 剩余标准差  $S=0.037$ ; 总多糖  $Y_2=8.41-1.38\ X_1+0.2\ X_3-5.21\times 10^{-4}\ X_2X_3-6.36\times 10^{-5}\ X_2^2$ ,  $r=0.999\ 9$ ,  $P<0.01$ ,  $F=9\ 772.8$ ,  $F_{0.01}(7, 1)=5\ 928.4$ , 剩余标准差  $S=0.032$ ; 水浸出物  $Y_3=4.44-1.06\ X_1+0.039\ 3\ X_1X_2+0.041\ 5\ X_1X_3$ ,  $r=0.999\ 9$ ,  $P<0.02$ ,  $F=5\ 666.4$ ,  $F_{0.02}(7, 1)=1\ 481.8$ , 剩余标准差  $S=0.047$ ; 醇浸出物  $Y_4=2.6+3.48\ X_1+0.156\ X_3-0.03\ X_1X_3+0.040\ 6\ X_1X_4-0.547\ X_1^2$ ,  $r=0.999\ 9$ ,  $P<0.01$ ,  $F=21\ 685$ ,  $F_{0.01}(7, 1)=5\ 928.4$ , 剩余标准差  $S=0.013$ 。

$F$  检验表明, 回归方程  $Y_1$ 、 $Y_3$  在  $\alpha=0.02$  水平上,  $Y_2$ 、 $Y_4$  在  $\alpha=0.01$  水平上均为显著; 从剩余标准差来看, 4 个响应模型均具有良好的预测精度, 大小顺序依次为  $Y_4>Y_2>Y_1>Y_3$ , 即  $Y_4$  模型最优; 模型的相关系数  $r$  也表明回归方程具有较高的预测精度。故使用该统计模型预测菟丝子盐炙工艺参数对其炮制的影响是可行的。

**2.7 工艺条件的优化**

通过对试验模型各指标的优化, 得到理论最佳组合及预测值, 结果见表 3。为优化最佳工艺条件, 进一步分析各因素对每项指标的影响, 根据回归方程做出等值线图。通过对等值线图的分析, 结合实验具体情况优化菟丝子盐炙工艺指标。

表 3 理论最佳组合及预测值  
Table 3 Best combination and predicted values in theory

指 标	最佳组合				预测值/%
	$X_1/\%$	$X_2/\text{min}$	$X_3/^\circ\text{C}$	$X_4/\text{min}$	
总黄酮	0.5	60	90	120	3.06
总多糖	0.5	60	170	60	30.81
水浸出物	4.5	300	170	60	46.10
醇浸出物	4.5	60	90	120	20.80

具体分析如下: ① $Y_1$ :  $X_1$  和  $X_4$  交互作用对结果影响最显著, 加少量盐、延长烘制时间有利于提高有效成分; 其次降低烘制温度 ( $X_3$ ) 可使总黄酮的量增加。② $Y_2$ :  $X_3$  对结果影响最显著, 其次是  $X_2$  和  $X_3$  交互作用较强, 然后是  $X_1$  的影响, 说明提高烘制温度, 减少闷润时间, 及缩短烘制时间可提高总多糖的量。③ $Y_3$ :  $X_2$  与  $X_3$  交互作用对结果的影响最显著, 其次是  $X_3$  与  $X_4$  交互作用影响, 随着闷润时间延长, 烘制温度的提高与烘制时间的延长可使

水浸出物增多。④ $Y_4$ :  $X_2$  对结果的影响最显著,  $X_1$  和  $X_4$  交互作用最强, 然后是  $X_3$  的影响, 说明减少闷润时间, 增大加盐量, 降低烘制温度有利于醇浸出物的量的提高。

综合分析, 加盐量越多越有利于水、醇浸出物的提高, 但对于总黄酮和总多糖量的提高不利, 考虑到一般加盐量为 2%, 相当于加盐量为中值, 故最后确定加盐量为 2%。高温短时烘制有利于总多糖、水浸出物量的提高, 而相对应的低温长时有利于总黄酮、醇浸出物量的提高, 从节约能源角度考虑选择高温短时较合适, 并且从外观性状来看不宜再升高温度, 否则易糊化。闷润时间仅对水浸出物影响较显著, 对其他指标影响不是很显著, 因此不宜闷润太长时间。因此最后得到综合的最优工艺条件为 100 g 净菟丝子药材, 将 2 g 盐用 70 mL 水溶解后浸泡药材 60 min, 置于 170 °C 烘箱内, 烘制 60 min。

## 2.8 验证试验

取 100 g 菟丝子药材 3 份, 按优化后的条件进行炮制, 测定总黄酮、总多糖、水浸出物和醇浸出物的量。结果见表 4。

表 4 验证试验  
Table 4 Verification test

试验号	总黄酮/%	总多糖/%	水浸出物/%	醇浸出物/%
1	3.12	30.59	45.92	21.04
2	3.09	30.82	46.17	20.75
3	3.05	30.63	46.22	20.62

## 3 讨论

采用烘制法代替炒制法进行菟丝子盐炙工艺研究具有明显优势, 弥补了炒制法受热不均匀, 易焦糊的缺点, 保证了炮制品质量, 且适合大规模炮制加工, 工艺参数容易控制, 劳动强度相对较低, 操

作简便。但是, 烘制法炮制菟丝子还处于试验阶段, 中间试验有待进一步研究。

本实验采用总黄酮、总多糖以及水、醇浸出物的量化指标, 综合评判了菟丝子盐炙的炮制工艺, 使其火候评判客观化, 克服传统单凭经验判断火候因人而异的主观性, 使其方法更加科学、合理和可行。经验证的最佳炮制工艺各项指标与优化后的理论值较接近, 与其他炮制方案结果相比占优。最终得到菟丝子最优盐炙工艺参数为: 加盐量 2%, 闷润时间 60 min, 烘制温度 170 °C, 烘制时间 60 min。通过均匀设计试验和回归分析, 建立的主要指标回归模型具有较高的精确度和显著性, 且通过回归模型和等值线的直观分析, 利于求得最佳工艺参数, 可作为优化本类炮制工艺的分析手段, 为其他相关炮制工艺提供参考, 为合理利用菟丝子炮制品提供依据。

## 参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [2] 郭洪祝, 李家实. 南方菟丝子化学成分研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2000, 23(3): 20-23.
- [3] 王 展. 菟丝子化学成分的研究 [J]. 中草药, 1998, 29(9): 577-579.
- [4] 张素茂. 高压蒸煮法炮制菟丝子 [J]. 中国中药杂志, 1992, 17(9): 536-537.
- [5] 曾 谄, 杜文清, 吴洪元, 等. 菟丝子炮制研究 [J]. 中草药, 1998, 29(10): 667-668.
- [6] 李 波, 金承勇. 正交法优选菟丝子黄酒炮制工艺 [J]. 中成药, 2003, 25(1): 43-45.
- [7] 田树革, 周晓英, 肖新芳, 等. 菟丝子及其不同炮制品中有效成分含量的研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2001, 24(1): 68-70.
- [8] 黄继全. 菟丝子炮制工艺探讨 [J]. 江西中医学院学报, 2006, 18(1): 36.