

多指标正交设计优选建昌帮炮制辅料蜜炙谷糠的制备工艺

王文凯*, 张晓婷, 张 正, 翁 萍, 杨 梅

江西中医药大学, 江西 南昌 330004

摘 要: 目的 优选建昌帮炮制辅料蜜炙谷糠(蜜糠)的最佳制备工艺。方法 以总黄酮、阿魏酸、醇浸出物、水浸出物、水分及外观性状为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验考察加蜜量、加水量、炒制时间和温度对蜜糠制备工艺的影响, 确定最佳制备工艺。结果 蜜糠最佳制备工艺为加谷糠量 30% 的蜜, 加蜜量 50% 的水, 在 90 °C 下炒制 120 s。结论 优选的蜜糠制备工艺切实可行, 为建昌帮炮制辅料蜜糠质量标准的制定奠定基础。

关键词: 建昌帮; 蜜糠; 制备工艺; 正交试验; 总黄酮; 阿魏酸; 醇浸出物; 水浸出物; 外观性状; 水分

中图分类号: R283.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)14-2460-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.14.011

Optimization of preparation process for Jianchang Band processing adjuvant—honey rice chaff by multicriteria orthogonal design

WANG Wen-kai, ZHANG Xiao-ting, ZHANG Zheng, WENG Ping, YANG Mei

Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: **Objective** To optimize the best preparation technology for Jianchang Band processing adjuvant—honey rice chaff. **Methods** With the total flavonoids, ferulic acid, alcohol extracts, water extracts, appearance, and moisture as evaluation indexes, the $L_9(3^4)$ orthogonal design test was used to check the influence on the preparation technology of adjuvant-honey rice chaff by the amount of honey and water, frying time and temperature to determine the optimum preparation process. **Results** The best preparation of Jianchang Band honey rice chaff is determined as preparing with 30% of honey in rice chaff, 50% of water in honey, frying for 120 s at 90 °C. **Conclusion** The optimal preparation process is feasible.

Key words: Jianchang Band; honey rice chaff; preparation process; orthogonal test; total flavonoids; ferulic acid; alcohol extracts; water extracts; appearance; moisture

谷糠为禾本科(Gramineae)植物稻 *Oryza sativa* L. 的成熟果实的外壳, 主要含膳食纤维、蛋白质、酚酸类, 具有很高的营养价值, 以及抗氧化活性及清除自由基的功能^[1]。谷糠作为粮食加工大宗副产品, 因其量大, 在化妆品和保健品行业中有着极为广泛的应用, 在中药炮制领域作为建昌帮特色辅料用于炮制中药, 有“南糠北麸”之说^[2]。

谷糠体轻, 表皮粗糙, 易燃, 吸水, 其色谷黄, 性温, 入脾胃经, 具健脾祛湿作用。谷糠作为辅料炮制中药在历史上早有记载, 雷敩的《雷公炮炙论》中记载:“凡使(马陆), 收得后, 糠头炒, 令糠头焦黑, 取马陆出, 用竹刀刮足去头了, 研成末用之。”明代李中梓的《医宗必读》中有“糠炒”的记载;

清代刘若金的《本草述》中记载:“用粘谷糠炒香, 去糠为末”。

建昌帮药界以糠炒制药, 历史悠久, 在我国中药炮制界尤具特色, 如炮制白术、白芍、山药等。已有文献报道对建昌帮蜜糠炒白术炮制工艺进行了优化^[3], 但是, 辅料蜜糠本身制备的传统工艺经验性很强, 使辅料蜜糠质量难以控制, 影响到建昌帮蜜糠炮制品的质量, 同时, 传统特色辅料蜜糠的综合质量控制方法有待建立, 而相关研究未见报道。本实验以外观性状、水分、水溶性浸出物、醇溶性浸出物、总黄酮、阿魏酸的质量分数为指标对蜜制谷糠工艺进行优选, 使工艺规范化, 为蜜糠的质量标准的建立提供一定的科学依据。

收稿日期: 2016-02-05

基金项目: 江西省卫生计生委中医药科研计划(2015B030); 江西省科技计划项目(20111BBG70030-1)

*通信作者 王文凯, 教授, 从事中药炮制工艺及饮片质量控制研究。Tel: (0791)87118995 E-mail: jxwwkx@163.com

1 仪器与材料

Dionex UltiMate 3000 高效液相色谱仪, PDA-3000 二极管阵列紫外检测器, Chromeleon 工作站, 赛默飞世尔科技有限公司; 紫外-可见分光光度计 UV-2550, 日本岛津; Phs-3E 型精密 pH 计, 上海日岛科技仪器有限公司; Sartorius 万分之一电子天平、Sartorius 十万分之一电子天平, 梅特勒-托利多仪器上海有限公司; KQ5200DB 型数控超声波清洗仪, 昆山市超声仪器有限公司; Raytek Raynger ST20 红外测温仪, 美国雷泰公司。

对照品芦丁(批号 100080-200707, 质量分数为 92.5%)、阿魏酸(批号 110773-201313, 质量分数为 99.6%), 中国食品药品检定研究院; 谷糠购自南昌市郊区一农家; 蜂蜜(批号 134245H2), 上海冠生园蜂制品有限公司; 甲醇, 色谱纯, 西陇化工股份有限公司; 乙醇, 分析纯, 天津市恒兴化学试剂制造有限公司; 氢氧化钠, 分析纯, 天津市永大化学试剂开发中心; 水, 双蒸水, 自制; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总黄酮定量测定^[4]

2.1.1 芦丁对照品溶液的配制 取芦丁对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解制成 0.192 mg/mL 的对照品溶液, 即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 取蜜糠约 2 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加石油醚 20 mL 超声 30 min。除去石油醚, 再加甲醇 20 mL, 水浴回流(80 °C, 1 h), 滤过, 滤液转移至 25 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 即得。

2.1.3 标准曲线的制备 分别精密量取芦丁对照品溶液 0.40、0.80、1.20、1.60、2.00、2.40 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加 5% NaNO₂ 溶液 0.3 mL, 摇匀, 5 min 后加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 0.3 mL, 摇匀, 放置 5 min, 加 4% NaOH 溶液 1 mL, 用甲醇定容至刻度, 放置 15 min。以甲醇为空白, 在 500 nm 处测定吸光度(*A*)值。以总黄酮质量浓度为横坐标(*X*), *A* 值为纵坐标(*Y*), 得回归方程 $Y=0.0113X-0.0091$, $r=0.9997$, 线性范围 7.68~46.08 mg/L。

2.1.4 精密度试验 精密取“2.1.2”项制备的供试品溶液 1 mL, 按“2.1.3”项的方法在 500 nm 处测定 *A* 值, 重复测定 6 次, RSD 为 1.65%, 表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 精密取“2.1.2”项制备的供试

品溶液 1 mL, 按“2.1.3”项的方法在 0、10、20、40、80、100 min 分别测定 500 nm 处 *A* 值, RSD 为 2.08%, 表明供试品溶液显色反应在 100 min 内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验 取谷糠适量, 按“2.1.2”项制备 6 份供试品溶液, 按“2.1.3”项的方法测定 *A* 值, 计算总黄酮质量分数, 其 RSD 为 2.61%, 表明该方法重复性良好。

2.1.7 加样回收率试验 取 6 份已测定总黄酮的谷糠适量, 精密称定, 分别精密加入 2.5 mg 芦丁对照品, 按“2.1.2”项的方法制备供试品溶液, 按“2.1.3”项的方法测定 *A* 值, 计算芦丁回收率, 结果加样回收率为 93.19%, RSD 为 2.73%。

2.1.8 样品测定 精密称取谷糠适量, 精密称定, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.3”项方法加入显色剂, 在 500 nm 处测定 *A* 值, 计算总黄酮质量分数。

同法测定谷糠生品中总黄酮为 0.10%。

2.2 阿魏酸定量测定^[4]

2.2.1 色谱条件^[5] 色谱柱为 Hypersil ODS2 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 大连依利特分析仪器有限公司); 柱温 30 °C; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 321 nm; 流动相为甲醇-1%醋酸水溶液(25:75); 对照品和样品色谱图见图 2。

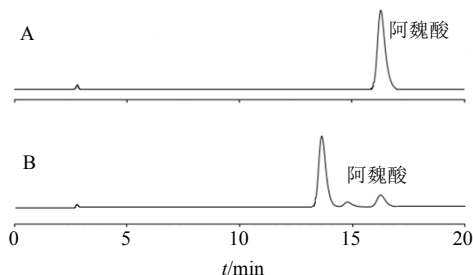


图 2 阿魏酸对照品(A)和蜜糠样品(B)的HPLC图
Fig. 2 HPLC of ferulic acid reference substance (A) and sample of honey rice chaff (B)

2.2.2 对照品溶液的配制 取阿魏酸对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解制成 0.456 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备^[5] 取蜜糠约 2 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加入 1%氢氧化钠-乙醇(1:4)溶液 20 mL, 80 °C 水浴回流 2 h, 滤过, 滤液调 pH 至 3.0, 离心, 取上清液定容至 25 mL, 精密量取 10 mL, 2 倍量醋酸乙酯萃取 3 次, 合并醋酸乙酯液, 挥干溶剂, 残渣用甲醇定容至 10 mL, 0.45 μm 滤膜

滤过, 取续滤液备用。

2.2.4 标准曲线的绘制 精密吸取阿魏酸对照品溶液 2、5、8、10、15、20 μL , 按“2.2.1”项色谱条件进样, 记录色谱峰面积。以对照品进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程: $Y=9\,154.7 X-0.211\,3$, $r=0.999\,8$, 线性范围 91.2~912.0 ng。

2.2.5 精密度试验 精密吸取“2.2.3”项制备的供试品溶液 10 μL , 在“2.2.1”项色谱条件下重复进样 6 次, 记录峰面积, 其 RSD 为 1.87%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密取“2.2.3”项制备的供试品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下分别在 0、6、12、18、24、30 h 进样 10 μL , 记录色谱峰面积, 其 RSD 为 1.64%, 表明供试品溶液在 30 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取谷糠适量, 按“2.2.3”项的方法制备 6 份供试品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样, 每份 10 μL , 记录色谱峰面积, 计算阿魏酸质量分数, 其 RSD 为 2.20%, 表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取已测定阿魏酸的谷糠适量, 精密称定, 共 6 份, 分别加入适量的阿魏酸对照品, 按“2.2.3”项方法制备供试品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样分析, 计算阿魏酸的回收率, 平均回收率为 95.35%, RSD 为 2.13%。

2.2.9 样品测定 精密称取谷糠适量, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 10 μL , 按“2.2.1”项下色谱条件进样, 测定峰面积, 计算阿魏酸质量分数。

同法测定生品谷糠中阿魏酸为 0.26%。

2.3 醇浸出物的测定^[6]

称取供试品约 2 g, 精密称定, 置 250 mL 锥形瓶中, 精密加乙醇 50 mL, 按《中国药典》2015 年版四部醇溶性浸出物测定法 (通则 2201) 项下的热浸法测定。

2.4 水浸出物的测定^[6]

称取供试品约 2 g, 精密称定, 置 250 mL 锥形瓶中, 精密加水 50 mL, 按《中国药典》2015 年版四部水溶性浸出物测定法 (通则 2201) 项下的热浸法测定。

2.5 水分测定^[6]

取供试品约 2 g, 精密称定, 按《中国药典》2015 年版四部水分测定法 (通则 0832) 项下的第二法 (烘

干法) 测定。

2.6 饮片性状的考察

将性状评分标准确定颜色亮黄色为 1.0 分, 黄色 0.8 分, 黄褐色 0.5 分; 稍有黏性 1.0 分, 黏性较强 0.8 分, 无黏性 0.5 分; 无焦斑 1 分, 略有焦斑 0.8 分, 焦斑较多 0.5 分。

2.7 正交试验优选蜜糠制备工艺

在预试验基础上, 选取加蜜量 (以加蜜量/谷糠量表示, A)、加水量 (以加水量/加蜜量表示, B)、炒制时间 (C) 和温度 (D) 为考察因素, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验, 每个因素设 3 个水平, 因素水平见表 1。测定各个样品的总黄酮量、阿魏酸量、醇浸出物量、水浸出物量及含水量, 并对外观性状进行评分, 用加权综合评分法计算综合评分, 各指标成分权重 (以传统经验和指标性成分结合评价的方式, 外观性状等传统经验参数与总黄酮、阿魏酸等指标成分量各占 50%) 分别为 0.15、0.15、0.1、0.1、0.1、0.4。水分评分 = $(100 + \text{水分最小值} - \text{水分对应值}) \times \text{水分权重系数}$; 其余各项指标评分都为 $(100 - \text{各项指标最大值} + \text{各项指标对应值}) \times \text{各项指标权重系数}$ 。水分量高的成品易变质, 质量差, 所以, 除水分评分外其他各项评分指标都是随着检测数据的增大而提高。综合评分为各项指标评分相加。试验安排及结果见表 1, 方差分析见表 2。

由直观分析可知, 4 个因素对制备工艺的影响顺序为 $A > C > D > B$; 方差分析表明, A 因素对综合评分具有显著影响, 最佳制备工艺为 $A_3B_3C_1D_1$, 即取谷糠加 30% 的蜜, 再加入蜜量 50% 的水, 在 90 $^{\circ}\text{C}$ 温度下炒制 120 s, 取出, 放凉。

2.8 验证试验

取谷糠 3 份, 按优选出的工艺条件进行制备, 总黄酮、阿魏酸、醇浸出物、水浸出物、水分、外观性状的测定及综合评分结果见表 3, 表明优选的最佳制备工艺合理可行。

3 讨论

建昌帮在辅料方面, 选料独特, 其中犹以谷糠的运用最具特色、用途最广, 有糠炒、蜜糠炙等特色炮制方法, 还有用做火制法的燃料, 如用糠火煨制、爇制、煅制药材, 同时还在净选、吸湿、润制、养护等方面广泛使用。使“南糠北麸”成为南北药帮炮制流派的一个显著区别。目前, 蜜糠作为炮制辅料, 尚无规范的制备工艺和质量标准, 影响到辅料蜜糠本身的质量及糠制药物成品的质量。根据建

表 1 正交试验设计及结果

Table 1 Design and results of orthogonal test

试验号	A/%	B/%	C/s	D/℃	总黄酮/%	阿魏酸/%	醇浸出物/%	水浸出物/%	水分/%	外观性状	综合评分
1	20 (1)	30 (1)	120 (1)	90 (1)	0.19	0.24	4.70	8.00	19.1	2.8	98.89
2	20 (1)	40 (2)	150 (2)	120 (2)	0.20	0.37	6.75	8.10	24.3	1.8	98.21
3	20 (1)	50 (3)	180 (3)	150 (3)	0.30	0.25	4.40	7.50	18.0	1.5	98.42
4	25 (2)	30 (1)	150 (2)	150 (3)	0.25	0.30	5.70	6.40	20.9	2.1	98.39
5	25 (2)	40 (2)	180 (3)	90 (1)	0.24	0.23	7.55	8.10	20.5	2.4	98.89
6	25 (2)	50 (3)	120 (1)	120 (2)	0.14	0.26	8.45	5.70	18.5	2.6	99.01
7	30 (3)	30 (1)	180 (3)	120 (2)	0.25	0.41	8.25	9.50	18.9	2.4	99.29
8	30 (3)	40 (2)	120 (1)	150 (3)	0.18	0.24	10.15	9.60	22.4	3.0	99.35
9	30 (3)	50 (3)	150 (2)	90 (1)	0.13	0.36	8.75	7.30	16.4	2.8	99.51
K_1	295.52	296.57	297.25	297.29							
K_2	296.29	296.45	296.11	296.51							
K_3	298.15	296.94	296.60	296.16							
R	2.63	0.49	1.14	1.13							

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	1.219	2	28.349	$P<0.05$
B (误差)	0.043	2	1.000	
C	0.218	2	5.070	
D	0.223	2	5.186	

$F_{0.05}(2, 2)=19.00$ $F_{0.01}(2, 2)=99.00$

昌帮传统蜜炙谷糠的工艺，以加蜜量、加水量、炒制时间和温度作为考察因素，结合单因素试验，确定各个因素的不同水平。优选最佳工艺结果：取谷糠加 30%的蜜，再加入蜜量 50%的水，在 90 ℃温度下炒制 120 s，取出，放凉。

谷糠中含有阿魏酸、黄酮类化合物等。研究表明，阿魏酸具有抗血小板凝集、抗血栓、抗菌消炎、抗肿瘤、抗突变、增加免疫功能等作用^[7]。此外，

表 3 工艺验证结果

Table 3 Results of verification

试验号	总黄酮/%	阿魏酸/%	醇浸出物/%	水浸出物/%	水分/%	外观性状	综合评分
1	0.14	0.37	9.3	7.40	17.1	3.0	99.60
2	0.15	0.38	9.1	7.65	16.6	3.0	99.65
3	0.14	0.35	8.9	7.20	17.9	2.8	99.37

阿魏酸可以抑制多种微生物生长，具有抗氧化活性，是一种优良的几乎无毒副作用的抗氧化剂^[5]。阿魏酸在防腐保鲜方面有很重要的作用，可作为防腐保鲜剂使用^[8]。黄酮类化合物具有显著的抗衰老、降血糖、抗癌、镇痛、抗炎、抗菌等作用^[9]。另有文献报道，谷糠本身作为中药在临床上用于治疗腰膝酸痛^[10]。因此，在优选蜜糠制备工艺时，既考虑到传统经验因素又考虑到活性成分的变化还注意到对可溶性物质的影响，采用检测总黄酮、阿魏酸、醇浸出物、水浸出物、水分量及外观性状，以综合评价的方法控制谷糠质量。

实验表明，蜜量、水量在所选水平的高限范围，加热的时间温度在低限范围，在选择各因素水平时，如蜜量、加水量再增加，加热的时间温度再小，则操作时水分难于除去，成品性状不易达到要求。蜜糠制备时随着炒制程度的不同阿魏酸的量呈先升高后降低趋势，产生的原因可能是蜜糠经过炒制更加疏松，成分更易溶出，但是，如果炒制温度过高和时间过长阿魏酸的量又会下降；不同的炒制程度总黄酮的量也在发生改变，总黄酮的量随着炒制温度的升高而增加。因此，考察指标不宜仅选择总黄酮。中药多以煎液服用，因此增加醇溶性浸出物和水溶

性浸出物作为考察指标。另外,建昌帮制备蜜糠的传统方法,成品的色泽、黏度等性状变化是主要的判别标准,同时实验中发现,蜜糠的色泽也与炒制程度有关。而且,蜜糠成品放置后易吸潮,水分和黏性会发生改变。因此,将色泽、黏性等外观性状及水分也作为考察指标。客观指标性成分变化和传统经验控制各取一半综合考察,使现代科学和传统经验相结合,具有一定的科学性。结果显示,用最佳制备工艺制备的蜜糠,成品色泽鲜亮,略微粘手,从而说明优选出的蜜糠制备工艺合理、可行,同时,为蜜糠的规范性生产提供一定的依据。

参考文献

- [1] 李青,张名位,张瑞芬,等. 5种籼稻品种谷壳中游离态和结合态酚类物质含量及其抗氧化活性比较[J]. 中国农业科学, 2012, 45(6): 1150-1158.
- [2] 张金莲,曾昭君,潘旭兰,等. 苍糠在建昌帮中药炮制中的应用[J]. 中草药, 2013, 44(21): 3092-3094.
- [3] 王文凯,翁萍,张晓婷,等. 建昌帮蜜糠炒白术炮制工艺优化[J]. 中草药, 2015, 46(6): 857-860.
- [4] 王文凯,张正,翁萍,等. 樟帮炮制辅料蜜麸的制备工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(5): 1136-1138.
- [5] 廖律,周明达,肖劲,等. 米糠中阿魏酸的提取及高效液相色谱法测定[J]. 食品工业科技, 2007, 28(2): 217-219.
- [6] 中国药典[S]. 四部. 2015.
- [7] 张娟,金青哲,王兴国. 阿魏酸及其衍生物合成及药理研究进展[J]. 粮食与油脂, 2007, 21(1): 43-45.
- [8] 陈洋,唐瑶,曹婉鑫,等. 阿魏酸的制备及在食品工业中应用的研究进展[J]. 杭州化工, 2014, 44(4): 12-15.
- [9] 吴佳佳,顾霞敏,张文靓,等. 米糠总黄酮含量的测定[J]. 化学工程与装备, 2012(2): 133-134.
- [10] 漆承肖. 炒谷糠治疗腰膝酸痛[J]. 中级医刊, 1966(2): 110.