

• 药剂与工艺 •

粉碎过筛条件对吴茱萸含量测定结果的影响及解决办法

董嘉皓¹, 李 斐¹, 魏飞亭¹, 陈 洋¹, 葛 菲², 肖素芸³, 刘 超³, 杨武亮¹, 杨 明¹, 袁金斌^{1*}

1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

2. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

3. 江西中医药大学药学院 中药学科科研实践班, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 研究不同的粉碎过筛条件对吴茱萸含量测定的影响规律, 提出能反映取样代表性的粉碎过筛方法, 以减小实验误差。方法 以绿原酸、金丝桃苷、去氢吴茱萸碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸新碱为指标, 采用 HPLC 法测定不同粉碎过筛条件对其含量测定的影响。通过比较不同条件下各指标成分的含量及分析结果的精密度, 剖析粉碎过筛影响含量测定结果的原因, 进而确定合适的粉碎过筛方法。结果 吴茱萸中 6 种活性成分的含量与内果皮在粉末中的比例呈负相关。按《中国药典》2015 年版方法处理样品, 6 种活性成分含量测定的日内精密度和重复性试验结果多数不符合要求 (RSD > 5.0%)。当所有粉末都过 2 号筛时, 分析结果的精密度和重复性都符合分析要求 (RSD < 2.0%)。结论 内果皮等纤维素颗粒在粉末中的比例是药材粉碎过筛环节最关键的影响因素。所有粉末都能过 2 号筛的粉碎过筛方式既保证了取样的代表性, 又解决了分析结果的精密度和准确度符合分析要求的问题。

关键词: 粉碎过筛; 吴茱萸; 条状内果皮; 取样代表性; HPLC; 绿原酸; 金丝桃苷; 去氢吴茱萸碱; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 吴茱萸新碱; 精密度; 准确度; 纤维素

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)09-2026-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.09.008

Effects of crushing and sieving on compounds contents of *Euodiae Fructus* and its solution

DONG Jia-hao¹, LI Fei¹, WEI Fei-ting¹, CHEN Yang¹, GE Fei², XIAO Su-yun³, LIU Chao³, YANG Wu-liang¹, YANG Ming¹, YUAN Jin-bin¹

1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

3. Undergraduate of Research Practice Class, School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To study the effect factors and rules of the different crushing and sieving methods on the compounds contents of *Euodiae Fructus* (EF), and to propose an optimized crushing and sieving method which can reflect the sampling representativeness and reduce errors. **Methods** The bioactive compounds such as chlorogenic acid, hyperoside, dehydroevodiamine, evodiamine, rutaecarpine, and evocarpine were selected as the evaluation markers. The effects of the different crushing and sieving conditions were evaluated by comparing the contents and analytical precisions of EF components under different conditions by HPLC. The influencing factors and the rules were discussed and the suitable crushing and sieving method was then proposed. **Results** The contents of six components in EF were negatively correlated with the proportions of the endocarps in powders. Most intraday and intermediate precisions of six bioactive compounds don't meet the standards using the current pharmacopoeia method with RSD > 5%. And when all

收稿日期: 2017-12-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81560648)

作者简介: 董嘉皓 (1994—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为中药物质基础与质量控制。E-mail: 745431903@qq.com

*通信作者 袁金斌 (1971—), 理学博士, 教授, 研究方向为中药物质基础与质量控制。Tel: (0791)87118658 E-mail: kings2008@163.com

powders passing through 2[#] sieve, the good analytical precision and repeatability were obtained with RSD < 2%. **Conclusion** The cellulose particles, such as endocarps, are the key factors during the crushing and sieving process of the herbs. The crushing and sieving method with all powders passing through 2[#] sieve not only ensures the sampling representativeness, but also solves the analytical precision and accuracy.

Key words: crushing and sieving method; *Euodiae Fructus*; bar endocarp; sampling representativeness; HPLC; chlorogenic acid; hyperoside; dehydroevodiamine; evodiamine; rutaecarpine; evocarpine; precision; accuracy; cellulose

取样是分析测试的第一步, 取样方法与操作方式直接影响到后续分析测试结果^[1]。中药材及其饮片的样品制备环节中, 绝大多数需要进行适当的粉碎(或研磨)过筛。粉碎过筛条件会影响粉末粒径和组成比例^[2-8], 进而影响到活性组分的含量测定结果^[7-12]。吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.、石虎 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 或疏毛吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinieri* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实^[13]。《中国药典》2015 年版规定吴茱萸的取样方式为取本品粉末(过 3 号筛)约 0.3 g^[13]。《中国药典》2015 年版并未规定具体的粉碎过筛条件。本实验室在吴茱萸的陈化研究预试验中发现: 陈化时间依次递增的吴茱萸(来源统一, 确保样品代表性)的含量测定结果有较大的上下波动(正常情况下应该是可以忽略的波动或趋向一致的增大或减小)。经过反复分析论证, 认为这种波动可能与粉碎过筛条件密切相关。因此, 本实验设计了不同的粉碎过筛条件, 分析粉末粒径、组成比例和含量测定结果之间的关系, 探讨适宜的粉碎过筛条件。

1 仪器与材料

PS-80 A 超声波清洗机, 东莞市洁康超声波设备有限公司; Agilent 1260 series 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; Mettler AE 240 电子天平, 瑞士 Mettler 公司; L-500 型离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; 116 B 型高速中药粉碎机, 瑞安市永历制药机械有限公司; BA410 生物显微镜, Motic 公司。

对照品绿原酸、吴茱萸碱、吴茱萸次碱, 中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110753-200413、110802-200504、0801-9702; 金丝桃苷对照品, 批号 MUST-16102605, 成都曼斯特生物科技有限公司; 去氢吴茱萸碱对照品, 上海源叶生物科技有限公司, 批号 B21028; 吴茱萸新碱对照品, 上海胤珂生物科技有限公司, 批号 15266-38-3。所有对照品的质量分数均 ≥ 98.5%。其他试剂均为分析纯。吴

茱萸 *Euodiae Fructus* 药材采自江西新干, 经江西中医药大学曹岚副教授鉴定为芸香科吴茱萸属植物石虎 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸、金丝桃苷、去氢吴茱萸碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸新碱对照品适量置于 10 mL 量瓶中, 分别加入无水甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 得单一成分储备液。再依次分别精密吸取上述 6 个储备液各 1 mL 加入 10 mL 量瓶中, 加无水甲醇定容至刻度, 摇匀, 得混合对照品储备溶液。混合对照品储备溶液中, 各对照品的质量浓度分别为绿原酸 506 μg/mL、金丝桃苷 126 μg/mL、去氢吴茱萸碱 503 μg/mL、吴茱萸碱 501 μg/mL、吴茱萸次碱 503 μg/mL、吴茱萸新碱 511 μg/mL。

2.1.2 供试品溶液的制备^[13] 取本品粉末约 0.3 g (按实验设计粉碎过筛), 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%乙醇 25 mL, 称定质量, 浸泡 1 h, 超声 40 min, 放冷补足减失的质量, 摇匀滤过, 取续滤液, 过 0.22 μm 滤膜, 备用。

2.2 色谱条件^[14]

色谱柱为 Agilent Zorbax Eclipse Plus-C₁₈ 柱(100 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~5 min, 8%乙腈; 5~11 min, 8%~15%乙腈; 11~18 min, 15%~17%乙腈; 18~28 min, 17%~24%乙腈; 28~35 min, 24%~40%乙腈; 35~40 min, 40%~46%乙腈; 40~44 min, 46%乙腈; 44~45 min, 46%~60%乙腈; 45~60 min, 60%~75%乙腈; 60~61 min, 75%~100%乙腈; 61~65 min, 100%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 326 nm; 柱温 30 °C; 进样量 5 μL。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 逐次稀释“2.1.1”项混合对照品溶液, 得 6 个质量浓度水平的系列混合对照品溶液, 分别进样测定。以质量浓度为横坐标(X),

峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归分析。得回归方程分别为绿原酸 $Y=13.45 X-13.04$, $r=0.999\ 8$; 金丝桃苷 $Y=7.675 X+3.765$, $r=0.999\ 6$; 去氢吴茱萸碱 $Y=9.875 X-14.26$, $r=0.999\ 5$; 吴茱萸碱 $Y=1.615 X-3.660\ 4$, $r=0.999\ 5$; 吴茱萸次碱 $Y=29.51 X+3.97$, $r=0.999\ 6$; 吴茱萸新碱 $Y=8.245 X-4.25$, $r=0.999\ 6$ 。线性范围分别为绿原酸 $1.58\sim 506.00\ \mu\text{g/mL}$ 、金丝桃苷 $0.394\sim 126.00\ \mu\text{g/mL}$ 、去氢吴茱萸碱 $1.57\sim 503.00\ \mu\text{g/mL}$ 、吴茱萸碱 $1.57\sim 501.00\ \mu\text{g/mL}$ 、吴茱萸次碱 $1.57\sim 503.00\ \mu\text{g/mL}$ 、吴茱萸新碱 $1.60\sim 511\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.3.2 精密度试验 取上述混合对照品溶液, 在“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次, 以绿原酸、金丝桃苷、去氢吴茱萸碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸新碱的峰面积计算 RSD 值, 分别为 0.6%、0.6%、0.7%、0.6%、0.5%、0.8%。

2.3.3 稳定性试验 取吴茱萸粉末, 按“2.1.2”项方法制备供试品溶液, 分别于室温下静置 0、2、4、6、12、24、48 h 后进样测定, 记录峰面积, 计算峰面积 RSD 值, 结果绿原酸、金丝桃苷、去氢吴茱萸碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸新碱的 RSD 值分别为 1.4%、1.0%、1.1%、0.8%、0.6%、1.1%。

2.3.4 重复性试验 取吴茱萸样品 6 份, 按“2.1.2”

项方法制备供试品溶液, 分别进样测定, 记录峰面积, 计算质量分数。结果绿原酸、金丝桃苷、去氢吴茱萸碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸新碱质量分数的 RSD 值分别为 1.8%、1.8%、1.3%、1.6%、1.2%、1.5%。

2.3.5 加样回收率试验 取已测定的吴茱萸药材粉末 6 份, 各约 0.3 g, 分别精密加入相当于样品中指标成分量 100% 的 6 种成分对照品的储备溶液, 按上述条件制备样品, 进样分析, 计算加样回收率。结果绿原酸、金丝桃苷、去氢吴茱萸碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸新碱的平均加样回收率分别为 101.9%、101.2%、98.4%、98.7%、100.9%、101.1%, RSD 分别为 2.7%、2.6%、2.3%、2.0%、2.5%、2.0%。

2.4 不同粉碎过筛方式对吴茱萸含量测定结果的影响

2.4.1 实验分组 吴茱萸药材经净制, 烘干, 混匀, 按四分法取样, 每份 50 g, 每组 3 份, 共 5 组, 分别命名为 S1~S5 (图 1)。从图 1 可以看出, 粉末粒径大小依次为 $S1>S2>S3>S4>S5$ 。其次, 可以明显看到 S1、S2、S3 和 S4 样品粉末中有许多淡黄色颗粒较大的条状物, 这些条状物占粉末的比例从大到小依次为 $S2>S1>S3>S4>S5$ 。

2.4.2 含量测定结果 5 组样品分别按照“2.1”和



S1-研钵研碎, 不过筛的粉末 S2-过不了 3 号筛的粉末 S3-不过筛的全粉 S4-过 3 号筛的粉末 S5-过 5 号筛的粉末
S1-powder grinded with a mortar, but not sieved S2-powder can't pass 3[#] sieve S3-whole powder not sieved
S4-powder can pass 3[#] sieve S5-powder can pass 5[#] sieve

图 1 各组药材粉末样品的典型照片

Fig. 1 Typical photographs of various powder samples

“2.2”项进行样品制备和进样检测，各组样品的典型色谱图见图 2，测定结果见表 1。样品中化合物的含量从高到低依次为 $S5>S4>S3>S1>S2$ 。根据粉末粒径、粉末中条状物的比例推测 6 种成分含量的变化与条状颗粒物的比例密切相关。

2.4.3 条状物的鉴别 图 3-A 是从 S2 样品中挑选出的条状物，呈淡黄色，质地坚韧，很难粉碎。从色泽、质地来看，估计这些条状物可能是吴茱萸的内果皮。为验证这种推断，挑选出开裂的吴茱萸果实以方便观察及拍摄其内果皮结构。从图 3-B 可以看到，开裂的果实中种子已经缺失，红色方框内内果皮组织清晰可见，为淡黄色，呈木质。木质内果皮不易粉碎，在粉末中大部分以条状大颗粒的形式存在。图 3-C 是内果皮的显微鉴别图，在 10 倍物镜下，内果皮呈长方形，壁稍厚，纹孔稀疏，数个细

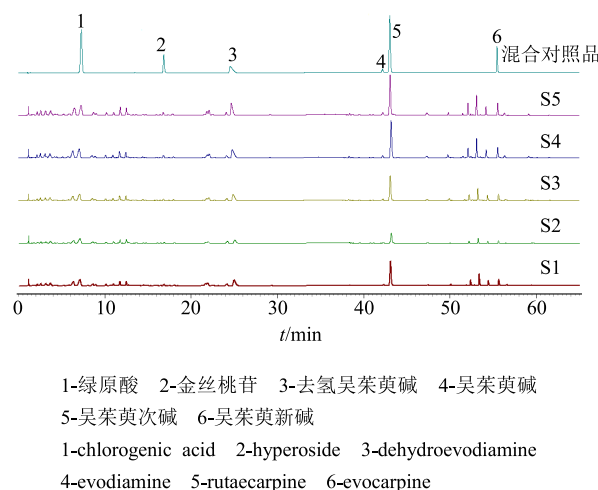


图 2 各组药材粉末样品的典型色谱图 (326 nm)

Fig. 2 Typical HPLC of five groups of powder samples (326 nm)

表 1 5 组吴茱萸粉末样品中化合物的质量分数 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Contents of six constituents in five groups powder samples of *Euodiae Fructus* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	质量分数/%					
	绿原酸	金丝桃苷	去氢吴茱萸碱	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸新碱
S1	0.387±0.011	0.091±0.003	0.571±0.015	0.473±0.016	0.479±0.016	0.354±0.013
S2	0.315±0.009	0.036±0.001	0.306±0.009	0.183±0.007	0.164±0.006	0.113±0.004
S3	0.512±0.010	0.112±0.002	0.776±0.013	0.627±0.012	0.587±0.010	0.417±0.009
S4	0.567±0.016	0.132±0.005	0.856±0.023	0.713±0.026	0.667±0.023	0.488±0.018
S5	0.623±0.013	0.163±0.004	0.985±0.019	0.803±0.019	0.768±0.020	0.531±0.015



A-粉碎后的大颗粒条状内果皮 B-开裂的吴茱萸果实 C-内果皮显微图
A-crushed bar endocarp B-ripped *E. Fructus* C-micrograph of endocarp

图 3 吴茱萸不同状态下的内果皮

Fig. 3 Typical pictures of various *E. Fructus* endocarps in different morphologies

胞相互嵌合平行排列，并含有紫黑色内容物。这些显微特征与文献报道^[15-16]结果相符，进一步确证了条状物的性质与归属。

2.4.4 条状内果皮对含量测定结果的影响 实验发现，由于内果皮的长条状的几何形状，导致其过筛率与过筛时间、振摇力度密切相关。为了进一步研究内果皮与样品含量的关系，设计了以下实验。吴茱萸药材随机分为 4 组，在相同的粉碎条件下，前

3 组样品过 3 号筛的振摇时间分别设为 30、60、120 s，第 4 组则只取过不了 3 号筛的条状内果皮。按“2.1”和“2.2”项进行制备和进样检测。由表 2 可知，内果皮中 6 种成分的含量极低，一些化合物如金丝桃苷未检测到。因此，样品中内果皮的占比越高，则化合物的测定结果将越低，反之亦然。1~3 组样品的实验结果也验证了这个结论，即随着过筛时间的递增，内果皮过筛率越高，其在样品粉末中

表 2 不同过筛方式下 6 种成分的含量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 2 Contents of six constituents from different sieving condition ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	过筛时间或组成	质量分数/%					
		绿原酸	金丝桃苷	去氢吴茱萸碱	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸新碱
1	30 s	0.602±0.010	0.138±0.002	0.909±0.011	0.744±0.010	0.698±0.011	0.512±0.008
2	60 s	0.570±0.009	0.128±0.001	0.873±0.010	0.714±0.011	0.666±0.009	0.485±0.009
3	120 s	0.548±0.009	0.125±0.002	0.843±0.009	0.647±0.009	0.597±0.009	0.455±0.009
4	内果皮	0.121±0.002	0.000±0.000	0.091±0.001	0.079±0.002	0.047±0.001	0.044±0.001

的占比递增,化合物的含量递减。

2.4.5 内果皮和粉末粒径对含量影响的对比 通常情况下,随着粉末粒径变小,粉末的比表面积增大,会使粉末与溶剂的接触面积增加,利于有效成分的提取与溶出。因此含量测定的结果往往会随着中药材粉末粒径的减小而增大^[4-5]。从图 2 和表 1 可知,5 组样品粉末粒径的大小顺序为 $S1 > S2 > S3 > S4 > S5$, 内果皮占比的顺序为 $S2 > S1 > S3 > S4 > S5$, 化合物含量从高到低的顺序与内果皮占比的排序相反,而与粉末粒径大小的排序不尽一致,表明内果皮对含量的影响更大。

一般情况下,粉末粒径对含量测定结果的影响不是线性的,粒径较大时可能影响化合物的溶出,而当粒径小于某个值时,可能对测定结果影响不大。表 1 反映了内果皮和粉末粒径对样品含量的综合影响。为单独研究粉末粒径对化合物含量的影响,设计了一个对比试验:① 3 组样品,每组 3 份;② 首先在同等粉碎条件下过 2 号筛,随机留 3 个样品作为第 1 组样品;③ 6 个样品继续粉碎,过 3 号筛,未过筛的颗粒继续粉碎 1 次,然后混入相应的已过筛粉末中,任取 3 份作为第 2 组样品;④ 剩下的为第 3 组,继续粉碎,使之基本过 5 号筛。按前述方法对上述样品进行分析,3 组样品的含量测定结果无显著性差异(t 检验, $P < 0.01$),表明当扣除了内果皮占比的影响(过了 2 号筛的内果皮均混入了相应样品)后,粉末粒径对含量测定结果的影响基本可以忽略。所以,本实验条件下样品粉碎过筛的影响因素主要是内果皮在样品中的占比。

2.5 吴茱萸粉碎过筛条件的优化

2.5.1 现有粉碎过筛条件需改进 综上所述,内果皮在粉末样品中的占比对吴茱萸中化合物的测定结果影响很大,而内果皮的占比与粉碎时间、过筛时间、振摇力度密切相关。这些因素的改变直接影响样品中内果皮的占比,导致测定结果出现波动,产

生较大的分析误差,且以往的实验中也并没有对这些因素进行控制。因此,推测此前有关吴茱萸含量测定方法文献中的精密度验证实验中,其 n 个样品可能取自同一过筛后的粉末,而非 n 份粉碎前的样品。为验证这种猜想,基于《中国药典》2015 年版中的样品制备方法^[13]设计了 2 组实验:第 1 组 6 份样品均取自同一粉碎过 3 号筛后混合均匀的粉末;第 2 组样品取自混合均匀的吴茱萸果实,共 6 份,每份 50 g,粉碎,过 3 号筛,其余制备方法同第 1 组。第 1 组样品的精密度(日内精密度、重复性)均符合分析要求($RSD < 2.0\%$)。第 2 组样品的精密度和重复性结果见表 3,6 份样品测定结果的 RSD 均大于 2.0%,甚至大于 5.0%。实验结果既验证了本课题组的推测,也验证了粉碎过筛条件对分析结果的影响。

2.5.2 优化的粉碎过筛条件 在预试验中发现,吴茱萸药材充分粉碎后,总有部分颗粒无法过 2 号筛,但是却可以过 3 号筛。而粉末粒径在过 2 号筛和过 5 号筛之间,对含量测定结果的影响基本可以忽略。因此提出粉碎过筛条件如下:50 g 药材充分粉碎 30 s,全粉过 2 号筛。表 4 是该条件下样品分析结果的精密度数据,日内精密度和重复性均符

表 3 吴茱萸样品药典制备方法的精密度 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 3 Precisions of *E. Fructus* sample preparation using pharmacopoeia method ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

化合物	日内精密度 ^a		重复性 ^b	
	质量分数/%	RSD/%	质量分数/%	RSD/%
绿原酸	0.565±0.013	2.3	0.575±0.016	2.8
金丝桃苷	0.134±0.005	3.8	0.132±0.005	3.8
去氢吴茱萸碱	0.859±0.029	3.4	0.869±0.035	4.0
吴茱萸碱	0.710±0.056	7.9	0.708±0.043	6.0
吴茱萸次碱	0.668±0.039	5.8	0.674±0.037	5.5
吴茱萸新碱	0.488±0.031	6.3	0.483±0.037	7.6

^a 同一个分析人员的实验结果; ^b 6 个分析人员的实验结果,下同

^aResults from one person; ^bresults from six operators, same as below

表 4 本实验样品制备方法的精密度 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 4 Precisions of preparation method of samples ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

化合物	日内精密度 ^a		重复性 ^b	
	质量分数/%	RSD/%	质量分数/%	RSD/%
绿原酸	0.516±0.008	1.6	0.516±0.009	1.8
金丝桃苷	0.115±0.002	1.6	0.115±0.002	1.8
去氢吴茱萸碱	0.775±0.008	1.1	0.768±0.010	1.3
吴茱萸碱	0.636±0.006	1.0	0.631±0.010	1.6
吴茱萸次碱	0.595±0.005	0.8	0.592±0.007	1.2
吴茱萸新碱	0.429±0.004	0.9	0.428±0.007	1.5

合分析要求, RSD<2.0%。

3 讨论

本实验根据前期研究结果^[14,17-21]和文献数据, 选取了绿原酸、金丝桃苷、去氢吴茱萸碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸新碱为含量测定指标。这 6 个化合物极性分布较大, 基本涵盖了吴茱萸化学成分的类型。此外, 如图 2 所示, 其他色谱峰(化合物)的变化情况(峰的高低)也与这 6 个指标成分一致。因此, 它们的含量变化能反映吴茱萸化学成分的整体变化。

吴茱萸果实包括外果皮、中果皮、内果皮和种子。药材粉末中常见非腺毛、腺毛、石细胞、油室、导管、草酸钙簇晶、表皮细胞、纤维、内果皮和黏液细胞等。其中, 内果皮和纤维较难粉碎。内果皮细胞狭长, 壁稍厚, 常数个相互嵌合平行排列^[15-16], 很难得到微细颗粒。这种组织结构的多样性、粉碎难易程度的差异, 造成了过筛后粉末组成与原始组成的不一致。如果化合物在这些组织中的分布不均匀, 过筛前后的含量测定结果也就不一致, 且不一致的程度会随着分布差异的增大而增大。实验发现, 吴茱萸的内果皮就是这种典型的组织结构: 化学成分含量极低; 不易粉碎。吴茱萸内果皮在粉末样品中的占比显著影响着含测结果, 而其占比与粉碎过筛条件(如粉碎时间、过筛时间、振摇力度等)密切相关。

分析结果的好坏需从精密度和准确度 2 个方面去衡量, 好的精密度是先决条件。吴茱萸内果皮的特点使得粉碎过筛条件严重影响了分析结果的精密度(表 3)。从同一粉末样品取 n 个样去验证精密度, 虽然能得到符合要求的 RSD 值, 但取样已失去代表性, 同时其结果也不能体现整个取样过程的精密度。

理论上, 如果能严格控制过筛条件, 确保内果皮占比的一致性, 也可以获得好的精密度数据。但实际分析中, 这些粉碎过筛条件的影响因素众多, 具体操作存在很大的不确定性, 熟练的分析人员也许可以做到较好的日内精密度, 但好的重复性(中间精密度)和重现性数据将是一种低概率事件, 甚至是一种不可能。因此, 必须对吴茱萸药材的粉碎过筛进行改进。

在实验中发现, 充分粉碎后(粉碎 30 s), 净制过的吴茱萸药材粉末几乎均可通过 2 号筛, 但总有部分不能通过 3 号和 5 号筛。研究还发现, 在保持内果皮等纤维素颗粒在粉末中占比(即后续过筛环节不剔除内果皮等)的条件下, 粉末粒径小于 24 目(过 2 号筛)时对分析结果无影响。据此提出了改进的粉碎过筛条件: 50 g 药材充分粉碎 30 s, 全粉过 2 号筛。这样处理, 样品是从全果实到全粉, 保留了整个药材组织, 分析结果真正反映了样品属性, 确保了取样的代表性; 同时, 保持了粉末样品中各部位、各组织结构的占比, 消除了样品差异, 保证了分析方法的精密度; 此外, 与传统的研磨方法相比, 本法还消除了粉末粒径的影响。

《中国药典》2015 年版收录的中药材与饮片大致可以分成 3 类: ① 容易粉碎的花、叶、柔软的全草、粉状根茎类药材; ② 较难粉碎的含纤维素类的药材如吴茱萸、胡椒、花椒、谷芽等; ③ 难粉碎的木质类藤茎、根茎类药材。后 2 类药材普遍存在着部分组织颗粒不能过筛的问题, 对这些不能过筛的部位的取舍是个共性问题。本实验对吴茱萸药材的处理方法可为这些药材的处理提供参考。

参考文献

- [1] 熊志伟, 罗云, 廖正根, 等. 用抽球模型预测粉体的最小取样量 [J]. 中草药, 2014, 45(19): 2776-2781.
- [2] 张国立, 闫志慧, 陈露, 等. 粒径对甘草粉末中甘草酸、甘草苷的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(23): 3328-3333.
- [3] 卓丹如, 阙慧卿, 章宁, 等. 不同粉碎度野生西洋参人参皂苷 Rb₁ 的体外溶出度研究 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(5): 374-376.
- [4] 闫珂巍. 三七粉末饮片的质量控制及三七总皂苷提取纯化工艺研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.
- [5] 倪力军, 盖群, 陈露, 等. 不同粒径马钱子粉中马钱子碱、土的宁的含量分析与比较 [J]. 华东理工大学学报: 自然科学版, 2012, 38(2): 195-199.

- [6] 张红梅, 王长虹, 王峥涛. 正交试验法优选疏毛吴茱萸提取工艺 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 2001-2004.
- [7] 霍金海, 贺小雪, 张 瑞, 等. 球磨粉碎技术对刺五加中有效成分提取的影响 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(2): 154-157.
- [8] 何柏涛. 粉碎后不同过筛比例对丹参含量测定结果的影响 [J]. 现代中药研究与实践, 2005(3): 49-50.
- [9] 谭周飞. 不同粉碎粒度对血竭中血竭素含量测定的影响 [J]. 中国药事, 2013, 27(12): 1298-1300.
- [10] 陈士林, 黄志海, 丘小惠, 等. 中药精准煮散饮片 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(9): 1430-1440.
- [11] 税丕先, 朱 焯, 牛曼思, 等. 有关粉碎中药问题的再商榷 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(10): 2489-2490.
- [12] 王 森, 欧水平, 赵 萍, 等. 超微粉碎对虎杖膏透皮吸收和流变性的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2425-2430.
- [13] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [14] 董嘉皓, 李 斐, 魏飞亭, 等. 综合评分法优化吴茱萸中 5 种活性成分的提取工艺 [J]. 江西中医药, 2017, 48(11): 60-62.
- [15] 张红梅, 李 国, 赵志礼, 等. 吴茱萸药材的生药学鉴定 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(3): 712-713.
- [16] 张红梅, 李 国, 宋 龙, 等. 吴茱萸与伪品臭辣树果实的生药学鉴定 [J]. 中药材, 2016, 39(3): 515-518.
- [17] 蒋 俊, 贾晓斌, 陈 彦, 等. HPLC-DAD 法测定炮制辅料吴茱萸汁中绿原酸、吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 396-398.
- [18] 罗习珍, 王江梅, 张 敏, 等. 离子对色谱法同时测定吴茱萸中的辛弗林、吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量 [J]. 湖南中医药大学学报, 2009, 29(3): 44-46.
- [19] 王 亮, 窦立雯, 郭 威, 等. 基于中药传统用法的毒性 Q-Marker 发现: 以吴茱萸为例 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1159-1166.
- [20] 陈 洋, 梁 健, 董 伟, 等. 基于谱-效相关分析的吴茱萸止呕药效物质的初步研究 [J]. 药学报, 2017, 52(11): 1737-1742.
- [21] Liang J, Chen Y, Ren G, *et al.* Screening hepatotoxic components in *Euodia Rutaecarpa* by UHPLC-QTOF/MS based on spectrum-toxicity relationship [J]. *Molecules*, 2017, 22(8): 1-14.