基于"火力火候"探讨川牛膝工业化酒炙工艺量变关系及标准化研究

施崇精1,宋 英2,石征蓉1,袁强华2*

- 1. 成都市中西医结合医院,四川 成都 610095
- 2. 成都中医药大学附属医院,四川 成都 610075

摘 要:目的 探究川牛膝 Cyathulae Radix 工业化酒炙工艺与其内外特征、终点药温的量变关系,优选川牛膝最佳酒炙工艺并量化酒炙终点。方法 采用外观颜色评分量化外在特征;采用 HPLC 法测定的 15 个 HPLC 特征峰峰质比量化内在特征;采用红外线温度计量化终点药温;采用单因素法探究加酒量、闷润时间、最大炒药量比重、炒制温度、炒制时间、炒筒转速在不同水平下与川牛膝外观颜色、HPLC 特征峰、终点药温之间的量变关系。结果 最大炒药量比重、炒制温度、炒制时间对内外特征、终点药温有明显影响,加酒量、闷润时间、炒筒转速对内外特征、终点药温无明显影响。优选的酒炙工艺为取最大炒药量比重为 40%的川牛膝饮片,加饮片质量 10%的黄酒闷润 2 h,置控温 200 $^{\circ}$ C、转速 15 r/min 的鼓式炒药机中炒制 20 min,倾出晾凉。酒炙终点药温在 130~140 $^{\circ}$ C。结论 优选的川牛膝酒炙工艺参数明确、合理稳定、易于量化酒炙终点,适合于川牛膝酒炙工业化生产。

关键词:川牛膝;火力火候;工业化酒炙工艺;内外特征;终点药温;5-羟甲基糠醛;杯苋甾酮

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2023)15 - 4839 - 10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.15.009

Exploring quantitative relationship and standardization research of wine stir-fry industrial technology of *Cyathulae Radix* based on "fire heat"

SHI Chong-jing¹, SONG Ying², SHI Zheng-rong¹, YUAN Qiang-hua²

- 1. Chengdu Integrated TCM&Western Medicine Hospital, Chengdu 610095, China
- 2. Teaching Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

Abstract: Objective To explore the quantitative relationship between the wine stir-fry industrial technology of Chuanniuxi (Cyathulae Radix, CR) and its its internal, external characteristics, the end point temperature, and to optimize the best wine stir-fry technology of CR and quantifying the end point of processed. **Methods** The appearance color score was used to quantify the external characteristics; The internal characteristics were quantified by the 15 HPLC characteristic peak mass ratios determined by HPLC; The infrared thermometer was used to quantify the temperature of the end point drug temperature of the wine stir-fry industrial technology; The single factor method was used to explore the quantitative relationship between the amount of wine added, the soak time, the proportion of the maximum stir-fry amount, the stir-fry temperature, the stir-fry time, the rotation speed of the stir-fry tube at different levels and the appearance color, the HPLC characteristic peak, and the end point temperature of the wine stir-fry industrial technology of CR. Results The proportion of the maximum stir-fry amount, stir-fry temperature and stir-fry time had significant effects on the internal and external characteristics and the end point drug temperature, while the amount of wine added, the soak time and the rotation speed of the stir-fry tube had no significant effects on the internal and external characteristics and the end point drug temperature. The optimal wine stir-fry industrial technology of CR is as follows: take the CR slices with the maximum stir-fry amount of 40%, add 10% yellow rice wine to moisten for 2 h, put them in a drum stir-fry machine with a controlled temperature of 200 °C and a rotating speed of 15 r/min, fry for 20 min, and pour them out to cool. The drug temperature at the end point temperature of the wine stir-fry industrial technology is between 130-140 °C. Conclusion The optimized wine stir-fry industrial technology of CR is clear, reasonable and stable, easy to quantify the end point of processed, and suitable for wine stir-fry industrial technology of CR.

大幅百切: 2023 02 20 サムエロ 同点上にも

收稿日期: 2023-02-28

基金项目: 国家中医药管理局国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-SC-41); 四川省中医药管理局中医药科学技术研究专项项目(2017ZY001)

作者简介: 施崇精 (1995—), 男, 硕士研究生, 主管中药师, 主要从事中药药剂与炮制研究。E-mail: 1124758663@qq.com

^{*}通信作者: 袁强华, 男, 硕士研究生, 主管中药师, 主要从事中药药剂与炮制研究。Tel: (028)87783257 E-mail: 369271467@qq.com

Key words: Cyathulae Radix; fire heat; wine stir-fry industrial technology; internal and external characteristics; end point drug temperature; 5-hydroxymethylfurfural; cyasterone

中药炮制是我国传统医学中独具一格的制药技术,已列入了我国非物质文化遗产。明代陈嘉谟在《本草蒙筌》中写道:"凡药制造,贵在适中,不及则功效难求,太过则气味反失",中药炮制既不能"不及"又不能"太过",而讲究"适中"。中药炮制"适中"才能发挥其增效减毒等特殊作用,常见的中药炮制方法有净制、切制、炒制、酒炙、醋炙、蒸制等,其中酒炙具有温煦、通达、升提等炮制作用。

川牛膝属川产道地药材, 具有逐瘀通经、通利 关节、利尿通淋之功,临床上用于治疗经闭癥瘕、 胞衣不下、跌扑损伤、风湿痹痛、足痿筋挛、尿血血 淋,经酒炙后能增强其逐瘀通经,通利关节之功[1-2]。 根据《中国药典》2020年版规定,酒川牛膝经酒炙 后其形如川牛膝片,表面棕黑色,微有酒香气,味 甜。酒川牛膝较川牛膝片的主要差异为表面棕黑色、 微有酒香气等主观性性状描述, 并未阐述具体的酒 炙参数和客观性差异,难以体现出"适中"的客观 性和标准性。现代工业化酒炙多采用鼓式炒药机等 自动化设备进行炒制,而现有酒炙工艺研究多以传 统手工炒制为考察对象,并未考察工业化炮制设备 特有参数对酒炙工艺的影响,严重脱离了工业化炮 制的实际情况。有学者对中药炮制技术提出"火力 火候"概念[3-5],即"火力"是使药物或受热体温度 变化的能力,是药物或受热体的温升速度,或药物、 受热体在单位时间内的温度变化值;"火候"是火力 持续作用的结果,是药物或受热体在火力作用下达 到的温度或热的程度。炮制中炒制过程是热能量传 递的过程, 通过外在热源使饮片热能发生变化而引 起其理化性质改变,从而达到增效减毒等炮制作用。 饮片热能变化体现在饮片的温度, 即为药温。本研 究基于"火力火候",结合现代工业化炮制技术,采 用鼓式炒药机依次考察加酒量、闷润时间、最大炒 药量比重、炒制温度、炒制时间、炒筒转速与川牛 膝外观颜色、HPLC特征峰、终点药温之间的量变 关系, 优选最佳酒炙工艺并验证, 同时对酒炙终点 进行药温量化,以期为酒川牛膝工业化酒炙工艺参 数和酒炙终点客观化提供参考依据[6]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪,美国安捷伦科

技有限公司; BP-211D型十万分之一电子天平,赛多利斯科学仪器(中国)有限公司; LE204E型万分之一电子天平,梅特勒托利多仪器公司; 111B型高速中药粉碎机,瑞安市永厉制药机械有限公司; KH-250B型超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司; CG-750型自控温鼓式炒药机,设备最大炒药量50kg,杭州海善制药设备有限公司; Testo 830-T1型红外线温度计,德图仪表(深圳)有限公司。

1.2 材料

杯苋甾酮对照品,批号 111804-201303,质量分数 93.5%,购自中国食品药品检定研究院; 5-羟甲基糠醛 (5-HMF)对照品,批号 170825,质量分数 98.0%,购自成都植标化纯生物技术有限公司;甲醇、乙腈、磷酸为色谱纯,美国 Tedia 公司;水为自制超纯水;川牛膝饮片 H(批号 171205)、川牛膝饮片 K(批号 180321)、川牛膝饮片 M(批号 180530),购自四川省中药饮片有限责任公司,经成都中医药大学附属医院药剂科主任中药师宋英鉴定,均为来源于苋科杯苋属植物川牛膝 Cyathula officinalis Kuan 的干燥根,符合《中国药典》 2020 年版的要求。

2 方法与结果

2.1 酒川牛膝饮片的制备

取川牛膝饮片,加适量黄酒闷润透,炒制至颜 色明显加深,表面棕黑色,微有酒香气,味甜时, 倾出晾凉,作为酒川牛膝饮片。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, $5 \mu m$)。流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液,梯度洗脱程序为 $0 \sim 8$ min, 1%乙腈; $8 \sim 15$ min, $1\% \sim 4\%$ 乙腈; $15 \sim 53$ min, $4\% \sim 9\%$ 乙腈; $53 \sim 70$ min, $9\% \sim 15\%$ 乙腈; $70 \sim 100$ min, $15\% \sim 16\%$ 乙腈; $100 \sim 110$ min, $16\% \sim 22\%$ 乙腈; $110 \sim 130$ min, $22\% \sim 33\%$ 乙腈; $130 \sim 145$ min, $33\% \sim 42\%$ 乙腈; $145 \sim 160$ min,42% 乙腈。检测波长为多波长切换: $0 \sim 15$ min,220 nm; $15 \sim 20$ nm;20 nm;

2.3 对照品溶液的制备

2.3.1 杯苋甾酮 取杯苋甾酮对照品适量,精密称定为 10.64 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度线,摇匀,得杯苋甾酮对照品储备液。精密吸取杯苋甾酮对照品储备液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度线,摇匀,即得含杯苋甾酮 99.484 μg/mL 的对照品溶液。

2.3.2 5-HMF 取 5-HMF 对照品适量,精密称定为 20.03 mg, 置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至 刻度线,摇匀,得 5-HMF 对照品储备液。精密吸取 5-HMF 对照品储备液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度线,摇匀,即得含 5-HMF 196.294 μg/mL 的对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

取待测饮片粉末(过3号筛)约1.0g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入45%甲醇20 mL,密闭,称定质量,超声处理(功率500 W、频率25 kHz)1h,放冷,再称定质量,用45%甲醇补足减失的质量,摇匀,经0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性考察 取川牛膝饮片 H 适量,按照 "2.4"项下方法制得供试品溶液;取对照品溶液和供试品溶液,按照 "2.2" 项下色谱条件进行测定。结果各特征峰分离度良好,相互之间无干扰,表明该方法专属性强。

2.5.2 精密度考察 取川牛膝饮片 H 适量,按"2.4" 项下方法制得供试品溶液,在 24h 内按"2.2"项下色谱条件连续进样 6次,由结果可知,以色谱峰 10 (杯苋甾酮)为参照峰,15 个特征峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 值均在 3.0%内,表明该仪器精密度良好。

2.5.3 重复性考察 取川牛膝饮片 H 适量, 共 6 份, 分别按 "2.4" 项下方法制得供试品溶液, 在 24 h 内按 "2.2" 项下色谱条件测定, 结果以色谱峰 10 (杯苋甾酮) 为参照峰, 15 个特征峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 值均在 3.0%内,表明该供试品溶液制备方法重现性良好。

2.5.4 稳定性考察 取川牛膝饮片 H 适量,按"2.4" 项下方法制得供试品溶液,在 0、3、6、9、12、15、18、21、24、48 h 后,按"2.2"项下色谱条件测定,结果以色谱峰 10 (杯苋甾酮) 为参照峰,15 个特征峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 值均在 3.0%内,

2.5.5 加样回收率试验 取已测定杯苋甾酮含量 (615.8 μg/g) 的川牛膝饮片 H 0.5 g 共 6 份,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入杯苋甾酮对照品溶液(186.025 6 μg/mL)1.5 mL,按照"2.4"项下方法制得供试品溶液 6 份,再按照"2.2"项下色谱条

表明供试品溶液在室温下放置 48 h 内稳定性良好。

件进行测定,计算得杯苋甾酮的平均加样回收率为101.64%,RSD为2.22%,结果表明,该方法准确度良好。

2.6 川牛膝酒炙内外特征与终点药温量化

2.6.1 酒炙工艺预试 参考现有研究,结合工业化酒炙技术和 CG-750 型自控温鼓式炒药机(以下简称鼓式炒药机)设备,对川牛膝酒炙工艺进行预试验。由预试验结果可知,取川牛膝饮片 H 20 kg(最大炒药量比重为 40%,最大炒药量比重=投料量/设备最大炒药量),加饮片质量 10%的黄酒闷润 2 h,置控温 200 ℃、转速 15 r/min 的鼓式炒药机中炒制 15 min,倾出晾凉,所得酒川牛膝饮片与传统手工炮制的外观颜色较为一致,且炒制过程中外观颜色容易控制,可行性较好。取川牛膝饮片 H 20 kg,共4 份,按预试验结果进行酒炙,即得酒川牛膝饮片 H1~H4。

2.6.2 外在特征 外在特征量化采取外观颜色评分法,由四川省中药饮片有限责任公司生产技术部 3 名经验丰富的炮制老药工进行观察评分,以分数为 0 分附近视为炮制"适中",即符合酒川牛膝的外观颜色要求;分数为正值视为炮制"太过",即饮片颜色过深,呈焦黑色或炭化;分数为负值视为炮制"不及",即饮片颜色未明显加深。外观颜色评分为 -100~100 分,作为外在特征量化指标。酒川牛膝饮片 H1~H4 外观颜色趋于一致,均符合酒川牛膝外观颜色的要求,即颜色较川牛膝饮片 H 明显加深,表面棕黑色,微有酒香气,味甜。酒川牛膝饮片 H1~ H4 的外观颜色评分见表 1。

2.6.3 内在特征 取川牛膝饮片 H、酒炙饮片 H1~ H4 适量,按"2.4"项下方法制备供试品溶液,取"2.3"项下杯苋甾酮对照品溶液和 5-HMF 对照品溶液及上述供试品溶液适量,按"2.2"项下色谱条件进样测定,记录色谱图,结果见图 1。

参考前期研究工作[7-9],以特征峰 10(杯苋甾酮) 为参照峰,筛选响应值较大的 15 个特征峰(编号依次为 1~15),采用以上 15 个特征峰峰质比(峰质比=峰面积/称样质量)作为内在特征量化指标。15

表 1 川牛膝酒炙前后特征峰峰质比、终点药温、外观颜色评分

Table 1 Characteristic peak-to-mass ratio, end point drug temperature and appearance color score before and after wine stir-fry technology of CR

样品名称 -							4	寺征峰	峰质比	Ľ						终点药	外观颜
件吅石你	1	2	3 (5-HMF)	4	5	6	7	8	9	10 (杯苋甾酮)	11	12	13	14	15	温/℃	色评分
川牛膝饮片 H	563.5	0.0	0.0	0.0	416.7	0.0	506.4	176.8	168.1	959.5	137.2	664.5	275.3	417.5	486.8	-	-
酒川牛膝饮片 H1	337.4	17.8	148.9	20.9	84.2	89.9	493.9	186.1	180.5	988.0	134.5	114.5	67.7	431.0	447.0	130	0
酒川牛膝饮片 H2	355.7	19.4	218.3	40.8	53.9	112.2	506.4	183.1	178.7	1 015.9	136.0	129.1	77.6	478.3	513.0	135	0
酒川牛膝饮片 H3	435.0	69.8	485.3	89.4	0.0	181.9	490.2	178.5	169.1	998.5	129.4	107.0	68.3	438.5	446.7	136	0
酒川牛膝饮片 H4	445.8	70.9	569.2	93.8	0.0	186.4	438.6	171.1	174.9	965.0	128.0	143.6	84.3	497.6	491.4	140	0
川牛膝饮片 K	469.7	0.0	0.0	0.0	441.6	0.0	572.4	185.4	147.0	1 023.7	152.9	660.3	237.5	443.9	331.9	_	_
酒川牛膝饮片 K1	499.3	49.4	474.3	45.2	186.3	196.9	530.2	185.9	145.0	1 031.6	148.9	180.6	81.4	408.7	333.7	137	0
川牛膝饮片 M	703.2	0.0	0.0	0.0	765.6	0.0	650.6	210.2	158.6	1 019.7	179.3	513.3	183.3	404.1	389.1	_	_
酒川牛膝饮片 M1	676.2	50.0	539.3	44.4	252.8	210.7	637.7	187.3	139.1	959.7	162.9	276.7	105.5	392.4	390.1	138	0

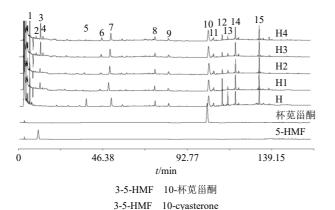


图 1 川牛膝酒炙前后特征峰色谱图

Fig. 1 Chromatogram of characteristic peaks before and after wine stir-fry technology of *Cyathulae Radix* (CR)

个特征峰指认了其 3 号峰为 5-HMF, 10 号峰为杯 苋甾酮,各特征峰峰质比结果见表 1。由结果可知,川牛膝饮片经酒炙后,新增了峰 2~4、6 共 4 个特征峰,峰 1、5、12、13 共 4 个特征峰峰质比出现明显下降,峰 7~11、14、15 共 7 个特征峰峰质比基

本保持不变,表明川牛膝酒炙前后在某些组分上发生了一定的变化,以此作为酒炙前后特征峰量变规律要求。

2.6.4 终点药温 采用红外线温度计测定酒川牛膝 饮片 H1~H4 炒制结束时饮片表面温度,即为终点 药温,结果见表 1。终点药温用以体现"火力火候"的强弱^[10]。

2.7 不同酒炙工艺与内外特征、终点药温量变关系 2.7.1 酒炙工艺设计与测定 根据 "2.6" 项下结果 和实际生产状况,取川牛膝饮片 H,采用鼓式炒药 机依次对加酒量、闷润时间、最大炒药量比重、炒 制温度、炒制时间、炒筒转速 6 个酒炙工艺因素的 不同水平进行单因素考察,以期探索酒炙工艺与内 外特征、终点药温之间的量变关系,为优选川牛膝 最佳酒炙工艺提供一定的参考依据。

取各酒炙工艺炮制的酒川牛膝饮片,按"2.6.2" 项下方法对外观颜色逐一评分,按"2.6.4"项下方法测定终点药温,结果见表 2~7。按"2.4"项下方

表 2 川牛膝酒炙工艺中加酒量对特征峰峰质比、终点药温和外观颜色评分的影响

Table 2 Characteristic peak-to-mass ratio, end point drug temperature and appearance color score of CR at wine stir-fry technology of amount of wine added

样品	加酒							特	征峰峰	质比							终点药	外观颜
编号	量/%	1	2	3 (5-HMF)	4	5	6	7	8	9	10 (杯苋甾酮)	11	12	13	14	15	温/℃	色评分
A1	10.0	252.8	185.7	1 583.2	329.0	0.0	429.9	402.0	90.8	152.9	939.2	119.7	124.5	59.7	391.2	332.7	149	10
A2	12.5	278.5	96.0	1 041.2	150.1	0.0	271.6	468.0	136.9	165.7	956.3	126.6	121.8	80.1	460.2	425.6	135	10
A3	15.0	300.7	61.1	350.2	60.4	0.0	176.6	489.0	159.9	173.4	993.0	180.6	113.5	60.9	444.9	461.9	130	0
A4	17.5	429.2	41.4	284.3	37.8	76.6	152.7	506.7	169.2	169.1	978.9	132.3	93.3	59.9	455.4	490.8	128	-10
A5	20.0	524.1	0.0	111.5	0.0	125.7	79.0	466.7	172.6	180.2	992.0	135.7	112.5	63.3	430.0	418.5	125	-10

表 3 川牛膝酒炙工艺中闷润时间对特征峰峰质比、终点药温和外观颜色评分的影响

Table 3 Characteristic peak-to-mass ratio, end point drug temperature and appearance color score of CR at wine stir-fry technology of soak time

样品	闷润							特	f征峰!	峰质比							终点药	外观颜
编号	时间/h	1	2	3 (5-HMF)	4	5	6	7	8	9	10 (杯苋甾酮)	11	12	13	14	15	温/℃	色评分
B1	0.5	468.5	71.9	466.0	111.4	0.0	197.1	464.4	92.0	204.4	988.3	122.2	136.1	80.7	442.7	428.7	136	-10
B2	1.0	372.9	52.4	403.5	80.7	0.0	163.3	400.3	91.5	180.2	980.3	123.2	71.2	37.2	349.6	349.6	134	-5
В3	1.5	302.9	72.5	365.4	124.4	0.0	208.2	455.4	131.5	172.1	959.3	119.0	90.6	58.9	439.9	393.2	134	-5
B4	2.0	262.3	117.7	899.6	212.1	0.0	290.7	460.4	105.0	163.8	1 007.4	123.3	88.9	65.8	435.3	355.4	139	0
B5	2.5	320.3	82.3	852.3	160.7	0.0	237.2	415.1	107.4	170.1	975.3	120.1	66.7	39.1	397.8	401.4	135	0
B6	3.0	361.2	149.1	1 377.7	109.1	0.0	323.8	372.6	65.5	177.0	954.1	113.1	87.0	68.4	380.5	298.5	138	0
В7	3.5	322.3	80.5	941.5	163.0	0.0	247.1	430.7	121.4	176.4	954.4	176.4	104.4	54.5	403.5	382.6	136	5

表 4 川牛膝酒炙工艺中最大炒药量比重对特征峰峰质比、终点药温和外观颜色评分的影响

Table 4 Characteristic peak-to-mass ratio, end point drug temperature and appearance color score of CR at wine stir-fry technology of proportion of maximum stir-fry amount

样品	最大炒药							特征	E 峰峰/	质比							终点药	外观颜
编号	量比重/%	1	2	3 (5-HMF)	4	5	6	7	8	9	10 (杯苋甾酮)	11	12	13	14	15	温/℃	色评分
C1	20	111.0	316.0	18 001.0	1 199.0	0.0	1 123.6	116.5	0.0	0.0	468.2	0.0	165.1	93.3	167.5	71.2	171	90
C2	30	211.0	278.2	3 642.1	768.3	97.4	615.7	298.9	23.0	0.0	906.1	98.2	129.3	86.8	338.9	261.2	155	30
C3	40	371.1	117.1	836.7	191.6	0.0	253.7	469.6	90.7	150.2	992.6	126.7	141.4	86.0	433.0	401.3	140	0
C4	60	369.3	0.0	47.8	0.0	218.2	0.0	521.7	177.3	154.3	1 062.4	142.3	203.1	97.9	444.6	486.8	113	-15
C5	80	437.2	0.0	0.0	0.0	300.9	0.0	513.5	176.1	162.0	1 053.5	141.4	243.6	109.0	436.0	477.6	103	-20
C6	100	468.6	0.0	22.5	0.0	357.5	0.0	520.0	165.3	156.9	1 009.1	135.5	284.4	123.2	409.8	467.3	90	-25

表 5 川牛膝酒炙工艺中炒制温度对特征峰峰质比、终点药温和外观颜色评分的影响

Table 5 Characteristic peak-to-mass ratio, end point drug temperature and appearance color score of CR at wine stir-fry technology of stir-fry temperature

样品	炒制温							特征	E峰峰)	质比							终点药	外观颜
编号	度/℃	1	2	3 (5-HMF)	4	5	6	7	8	9	10 (杯苋甾酮)	11	12	13	14	15	温/℃	色评分
D1	250	188.5	165.7	16 414.2	1 160.5	0.0	1 344.0	108.9	0.0	0.0	431.3	0.0	213.4	186.3	145.3	70.1	170	90
D2	225	309.8	210.9	1 981.8	496.4	0.0	431.9	362.4	0.0	152.9	938.9	109.5	147.0	78.4	388.8	284.0	149	30
D3	200	313.8	60.2	424.3	89.0	0.0	162.0	466.1	113.9	159.1	1 036.5	128.6	164.3	73.0	432.8	430.8	136	0
D4	175	393.8	0.0	49.0	0.0	161.2	0.0	566.2	172.4	155.8	999.9	136.7	200.4	86.8	462.5	496.6	115	-30
D5	150	449.4	0.0	0.0	0.0	326.8	0.0	562.7	179.7	150.4	1 016.6	136.6	349.1	146.6	459.4	535.4	100	-60
D6	125	412.5	0.0	0.0	0.0	326.3	0.0	542.1	172.5	142.4	1 042.1	145.4	226.4	99.4	444.7	492.1	85	-80

法制备供试品溶液,再按"2.2"项下色谱条件进样测定,记录并计算"2.6.3"项下所示的 15 个特征峰峰质比,结果见表 2~7。

倾出晾凉,即得编号依次为 A1~A5 的酒川牛膝饮片,按"2.7.1"项下方法测定并记录结果。

由表 2 结果可知,在外在特征方面,各样品外观颜色均整体差异不大,符合酒川牛膝外在特征要求,表明加酒量与外在特征无明显相关性。在内在特征方面,除 A5 样品未完全达到酒炙前后特征峰量变规律要求外,其余样品均符合特征峰量变规律,

表 6 川牛膝酒炙工艺中炒制时间对特征峰峰质比、终点药温和外观颜色评分的影响

Table 6 Characteristic peak-to-mass ratio, end point drug temperature and appearance color score of CR at wine stir-fry technology of stir-fry time

样品	炒制时							特征	征峰峰	质比							终点药	外观颜
编号	间/min	1	2	3 (5-HMF)	4	5	6	7	8	9	10 (杯苋甾酮)	11	12	13	14	15	温/℃	色评分
E1	22.5	78.7	698.8	17 332.3	686.5	0.0	1 358.3	119.1	0.0	0.0	458.0	122.0	278.0	118.3	150.3	67.4	163	85
E2	20.0	199.4	597.8	2 681.8	582.9	0.0	551.8	376.5	0.0	0.0	895.3	102.7	133.0	90.3	390.3	286.6	149	30
E3	17.5	267.7	105.2	660.7	154.6	0.0	230.6	495.4	103.5	143.8	987.8	119.2	158.0	81.2	450.7	442.6	139	10
E4	15.0	256.5	67.2	442.6	80.2	0.0	186.8	497.3	120.5	161.9	984.1	126.0	122.8	58.7	489.5	489.0	135	0
E5	12.5	347.0	0.0	50.3	0.0	198.8	78.1	537.3	180.3	154.7	999.7	133.1	155.0	70.9	488.2	522.7	108	-15
E6	10.0	388.8	0.0	35.5	0.0	221.5	0.0	487.6	165.2	151.1	975.5	131.2	164.0	68.0	426.9	432.9	107	-20
E7	7.5	390.5	0.0	0.0	0.0	360.9	0.0	551.5	181.6	138.4	1 007.6	183.9	117.5	52.8	459.1	474.3	88	-40

表 7 川牛膝酒炙工艺中炒筒转速对特征峰峰质比、终点药温和外观颜色评分的影响

Table 7 Characteristic peak-to-mass ratio, end point drug temperature and appearance color score of CR at wine stir-fry technology of rotation speed of the stir-fry tube

样品	炒筒转速/								特征峰	峰质	七						终点药	外观颜
编号	$(r \cdot min^{-1})$	1	2	3 (5-HMF)	4	5	6	7	8	9	10 (杯苋甾酮)	11	12	13	14	15	温/℃	色评分
G1	5	334.7	93.7	476.6	93.9	0.0	199.3	495.6	119.3	156.2	1 011.7	125.8	145.9	63.7	448.1	478.9	137	10
G2	10	356.9	90.1	478.7	92.5	0.0	187.4	487.6	120.8	158.9	991.8	130.1	157.6	70.7	468.9	460.1	134	-10
G3	15	369.3	84.5	446.9	78.4	0.0	184.7	490.6	109.2	144.6	983.7	123.7	132.8	64.6	473.2	433.9	136	5
G4	20	369.9	89.4	455.1	90.4	0.0	172.9	479.5	126.7	149.2	994.6	124.8	140.0	83.8	459.9	455.7	135	-5
G5	25	386.7	77.8	450.3	83.6	0.0	166.5	469.7	113.5	163.4	1 002.4	119.7	150.8	80.4	432.0	499.8	138	-10

表明加酒量对内在特征影响不大。

特征峰峰质比变化趋势表明加酒量与峰 2~4、6 共 4 个类特征峰呈负相关性,与峰 1、5 共 2 个特征峰呈正相关性,与峰 7~15 共 9 个特征峰无明显相关性。在终点药温方面,各样品终点药温差异不大,表明加酒量与终点药温无明显相关性。

从"火力火候"而言,由于黄酒用量的不同,使饮片升温速度略有不一致,从而导致饮片终点药温差异,并表现出酒川牛膝内外特征和终点药温的差异。经观察 10%及以上的黄酒用量均能将饮片润透。综上所述,加酒量对酒川牛膝的内外特征并未产生明显影响,结合生产实际情况考虑,拟定加酒量为 10%。

2.7.3 闷润时间 取最大炒药量比重为 40%的川牛膝饮片 H(20 kg) 共 7 份,加饮片质量 10%的黄酒分别闷润 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 h,分别置控温 200 \mathbb{C} 、转速 15 r/min 的鼓式炒药机中炒制 15 min,倾出晾凉,即得编号依次为 $B1\sim B7$ 的酒川牛膝饮片,按 "2.7.1" 项下方法测定并记录结果。

由表 3 结果可知,各样品外观颜色基本一致,

符合酒川牛膝外在特征要求,均达到酒炙前后特征峰量变规律要求,同时闷润时间与内外特征、终点药温之间均无明显相关性。经观察闷润 2 h 及以上可达到闷透的效果。综上所述,闷润时间对酒川牛膝内外特征未产生明显影响,结合实际情况和生产效率考虑,拟定闷润时间为 2 h。

2.7.4 最大炒药量比重 取最大炒药量比重分别为 20%、30%、40%、60%、80%、100%的川牛膝饮片 H(依次为 10、15、20、30、40、50 kg)共 6 份,加饮片质量 10%的黄酒闷润 2 h,分别置控温 200 °C、转速 15 r/min 的鼓式炒药机中炒制 15 min,倾出晾凉,即得编号依次为 C1~C6 的酒川牛膝饮片,按 "2.7.1"项下方法测定并记录结果。

由表 4 结果可知,在外在特征方面,各样品外观颜色差异很大,其中 C1 样品颜色基本成焦黑色且少量炭化,C5、C6 样品整体颜色未变深且不均匀,不符合酒川牛膝外在特征要求,其余样品符合酒川牛膝外在特征要求。最大炒药量比重越大,酒炙饮片外观颜色明显越浅,表明最大炒药量比重与外在特征呈负相关。

在内在特征方面,C4、C5、C6 样品未完全达到 酒炙前后特征峰量变规律要求,C1、C2、C3 样品 均符合酒炙前后特征峰量变规律要求,表明最大炒 药量比重对内在特征影响很大。

特征峰峰质比变化趋势表明最大炒药量比重与峰 2~4、6 共 4 个特征峰呈负相关性,与峰 1、5、7~11、14、15 共 9 个特征峰呈正相关性,与峰 12、13 共 2 个特征峰无明显相关性。在终点药温方面,最大炒药量比重越大,终点药温明显越低,加酒量与终点药温呈负相关。

从"火力火候"而言,由于最大炒药量比重不同,使饮片升温速度不一致,从而导致饮片终点药温差异,并表现出酒川牛膝内外特征和终点药温的差异。综上所述,最大炒药量比重对酒川牛膝的内外特征产生明显影响,根据内外特征分析,拟定最大炒药量为40%。

2.7.5 炒制温度 取最大炒药量比重为 40%的川牛膝饮片 $H(20 \, \text{kg})$ 各 6 份,加饮片质量的 10%的黄酒闷润 2 h,分别置控温 250、225、200、175、150、125 ℃转速 15 r/min 的鼓式炒药机中炒制 15 min,倾出晾凉,即得编号依次为 $D1\sim D6$ 的酒川牛膝饮片,按"2.7.1"项下方法测定并记录结果。

由表 5 结果可知,在外在特征方面,各样品外观颜色差异很大,其中 D1 样品颜色基本成焦黑色且部分炭化,D5、D6 样品整体颜色较浅,不符合酒川牛膝外在特征要求,其余样品符合酒川牛膝外在特征要求。炒制温度越高,酒炙饮片外观颜色明显越深,表明炒制温度与外在特征呈正相关。在内在特征方面,D4~D6 样品未完全达到酒炙前后特征峰量变规律要求,D1~D3 样品均符合酒炙前后特征峰量变规律要求,表明炒制温度对内在特征影响很大。

特征峰峰质比变化趋势表明炒制温度与峰 2~4、6 共 4 个特征峰呈正相关性,与峰 1、5、7~11、14、15 共 9 个特征峰呈负相关性,与峰 12、13 共 2 个特征峰无明显相关性。在终点药温方面,炒制温度越高,终点药温明显越高,炒制温度与终点药温呈正相关。

从"火力火候"而言,由于炒制温度不同,使 饮片升温速度明显不一致,从而导致饮片终点药温 差异,并表现出酒川牛膝内外特征和终点药温的差 异。综上所述,炒制温度对酒川牛膝的内外特征产 生明显影响,根据内外特征分析,拟定炒制温度为 200 ℃。

2.7.6 炒制时间 取最大炒药量比重为 40%的川牛膝饮片 H(20 kg) 各 7 份,加饮片质量的 10%的黄酒闷润 2 h,分别置控温 200 \mathbb{C} 、转速 15 r/min 的鼓式炒药机中炒制 22.5、20.0、17.5、15.0、12.5、10.0、7.5 min,倾出晾凉,即得编号依次为 $E1\sim E7$ 的酒川牛膝饮片,按 "2.7.1" 项下方法测定并记录结果。

由表 6 结果可知,在外在特征方面,各样品外观颜色差异很大,其中 E1 样品颜色基本成焦黑色且多数炭化,E7 样品整体颜色较浅,不符合酒川牛膝外在特征要求,其余样品符合酒川牛膝外在特征要求。炒制时间越长,酒炙饮片外观颜色明显越深,表明炒制时间与外在特征呈正相关。

在内在特征方面,E5~E7样品未完全达到酒炙前后特征峰量变规律要求,E1~E4样品均符合酒炙前后特征峰量变规律要求,表明炒制时间对内在特征影响很大。特征峰峰质比变化趋势表明炒制时间与峰2~4、6 共 4 个特征峰呈正相关性,与峰1、5、7~11、14、15 共 9 个特征峰呈负相关性,与峰12、13 共 2 个特征峰明显无明显相关性。在终点药温方面,炒制时间越长,终点药温明显越高,炒制时间与终点药温呈正相关。

从"火力火候"而言,由于炒制时间不同,从而导致饮片终点药温差异,并表现出酒川牛膝内外特征和终点药温的差异。综上所述,炒制时间对酒川牛膝的内外特征产生明显影响,根据内外特征分析,拟定炒制时间为15 min。

2.7.7 炒筒转速 取最大炒药量比重为40%的川牛膝饮片 H(20 kg) 各 5 份,加饮片质量的 10%的黄酒闷润 2 h,置控温 200 ℃、转速分别为 5、10、15、20、25 r/min 的鼓式炒药机中炒制 15 min,倾出晾凉,即得编号依次为 $G1\sim G5$ 的酒川牛膝饮片,按"2.7.1"项下方法测定并记录结果。

由表 7 结果可知,各样品外观颜色均基本一致,符合酒川牛膝外在特征要求,均达到酒炙前后特征峰量变规律要求,同时炒筒转速与内外特征、终点药温之间均无明显相关性。经观察发现在低转速下,极少部分饮片易长期粘附在炒筒内壁,导致成品中含有少量的焦黑饮片。

综上所述,炒筒转速对酒川牛膝内外特征未产 生明显影响,结合实际生产情况考虑,拟定炒筒转 速为15 r/min。

2.8 酒炙工艺、内外特征、终点药温的相关性分析

对各酒炙工艺样品与其外观颜色、特征峰、终 点药温的相关性进行统计分析,结果见表 8。由酒 炙工艺与外观颜色、特征峰、终点药温的相关性分 析可知,不同酒炙工艺对酒川牛膝内外特征、终点 药温的变化影响不一,其中最大炒药量比重、炒制 温度、炒制时间对内外特征、终点药温有明显影响, 而加酒量、闷润时间、炒筒转速未产生明显的影响。

表 8 川牛膝酒炙工艺与特征峰、终点药温和外观颜色的相关性

Table 8 Correlation of wine stir-fry technology and characteristic peak, end point drug temperature and appearance color of CR

酒炙工艺参数								特征	[峰							终点	外观
伯狄工乙多奴	1	2	3 (5-HMF)	4	5	6	7	8	9	10 (杯苋甾酮)	11	12	13	14	15	药温	颜色
加酒量	+	_	_	_	+	_	О	О	О	0	О	0	О	О	О	0	0
闷润时间	О	О	0	О	О	Ο	О	О	О	0	О	О	О	Ο	О	0	0
最大炒药量比重	+	_	_	_	+	_	+	+	+	+	+	Ο	О	+	+	_	_
炒制温度	_	+	+	+	_	+	_	_	_	_	_	О	О	_	_	+	+
炒制时间	_	+	+	+	_	+	_	_	_	_	_	0	0	_	_	+	+
炒筒转速	О	О	0	О	О	О	О	О	О	0	О	О	О	Ο	О	0	0

[&]quot;十"代表正相关性,"一"代表负相关性,"〇"代表无明显相关性

对数据进行归纳总结后得出,终点药温与外在特征呈正相关,而终点药温、外在特征与峰 2~4、6 共 4 个特征峰呈正相关性,与峰 1、5、7~11、14、15、12、13 共 9 个特征峰呈负相关性,与峰 12、13 共 2 个特征峰无明显相关性。

酒炙饮片外观颜色越深,与之呈正相关的峰2~4、6 共 4 个特征峰越高,与之呈负相关的峰1、5、7~11、14、15、12、13 共 9 个特征峰越低,体现了川牛膝酒炙前后内外特征变化之间的相关性。

从"火力火候"而言,是由于不同酒炙工艺下酒炙饮片的药温变化趋势和终点药温的不一致,从而导致了酒川牛膝内外特征的差异。

2.9 验证试验与酒炙终点量化

对优选的川牛膝酒炙工艺进行批内重复性验证,即取最大炒药量比重为 40%的川牛膝饮片 H(20 kg) 各 4 份,加饮片质量 10%的黄酒闷润 2 h,置控温 200 \mathbb{C} 、转速 15 r/min 的鼓式炒药机中炒制 15 min,倾出晾凉,即为"2.6.1"项下的酒川牛膝饮片 $H1\sim H4$ 。

对优选的川牛膝酒炙工艺进行批间重复性验证,即取最大炒药量比重为40%的川牛膝饮片 K、川牛膝饮片 M 各 20 kg,同上法炮制,即得酒川牛膝饮片 K1、酒川牛膝饮片 M1。

取酒川牛膝饮片 H1~H4、K1、M1,接"2.6.2" 项下方法对外观颜色逐一评分,接"2.6.4"项下方

法测定终点药温,结果见表 1。

取川牛膝饮片 H、K、M,酒川牛膝饮片 H1~H4、K1、M1 适量,按"2.4"项下方法制备供试品溶液,再按"2.2"项下色谱条件进样测定,记录并计算"2.6.3"项下所示的 15 个特征峰峰质比,结果见表 1。

由结果可知,川牛膝饮片经酒炙后外观颜色趋于一致,均符合酒川牛膝外在特征要求,均符合规定的酒炙前后特征峰量变规律要求,终点药温均在130~140 ℃。取酒川牛膝饮片 H1~H4、K1、M1,按《中国药典》2020 年版川牛膝项下"酒川牛膝"饮片的规定进行检测,其中杯苋甾酮质量分数依次为685.0、704.3、692.3、669.1、715.2、665.4 μg/g,所有检验结果均符合《中国药典》2020 年版要求。

根据"2.8"项下相关性分析,可知在实际的生产过程中,终点药温能快速、准确、有效地反映出酒炙饮片的内在特征,从而量化酒炙工艺的终点。根据上述批内和批间重复性验证试验可知,以炒制过程中药温达到 130~140 °C时,可作为酒炙终点量化标准。

综上所述,表明优选的川牛膝酒炙工艺参数明确、合理稳定、易于量化酒炙终点,适合于川牛膝酒炙工业化生产。

3 讨论

中药炮制是我国独特的制药技术, 千百年来中

[&]quot;+" represents positive correlation, "-" represents negative correlation, and "O" represents no significant correlation

药炮制对用药选择产生深远影响,传统中药炮制技术多为口耳相传,多对性状进行表述,并未对内在物质变化机理进行阐述,难以达到现代中药炮制技术标准化、客观化的要求。酒炙工艺相关研究多以手工炮制为基础,主要对加酒量、闷润时间、炒制温度、炒制时间为考察因素,严重脱离了现代工业化机器炒制的客观事实[11-13]。川牛膝酒炙工艺研究的文献报道较少,童凯等[14-16]采用 HPLC 法和 GC-MS 法对川牛膝酒炙前后化学成分变化进行分析,对川牛膝酒炙品的鉴定和质量控制提供参考依据,但其并未分析不同酒炙工艺参数与化学成分变化之间的规律。

本实验新增了最大炒药量比重、炒筒转速2个工业化酒炙工艺考察因素,采用 HPLC 多波长切换技术分析样品特征峰,其中有13个特征峰与各酒炙工艺参数有一定的相关性,表明选用的特征峰可反映出了酒炙工艺的变化,具有一定的代表性。

饮片受热炒制后原化学成分的分解或转化是酒 **炙后化学成分变化的主要原因, 化学成分的分解或** 转化与饮片受热程度有关,其主要由温度的高低、 时间长短和变化率决定,即与炒制温度、炒制时间 和最大炒药量比重3个酒炙工艺参数有关,本实验 结果表明以上 3 个酒炙工艺对酒川牛膝的内外特 征、终点药温有明显影响。5-HMF 是一种美拉德反 应产物, 主要由多糖类成分在高温下反应生成, 在 含糖类中药受热炮制后易于生成, 对发掘质量评价 新指标和规范炮制工艺拓展了新思路[17-19]。研究可 知,川牛膝饮片经酒炙后新增的3号峰为5-HMF, 且终点药温、外在特征与 5-HMF 呈正相关性, 其有 望作为川牛膝酒炙过程中是否炒制和炒制程度的标 志产物,对建立酒川牛膝质量标准和规范酒炙生产 有参考意义。同时拟进一步采用液质联用法对川牛 膝酒炙前后变化的化学成分作进一步分析,以期鉴 定更多酒炙特征性产物。

本研究考虑到外在特征判断存在主观误差的缺陷,纳入终点药温达 130~140 ℃作为酒炙终点的客观量化标准,体现了主客观优劣互补的特质,具有准确、快速、简便等特点,更符合工业化酒炙终点需快速判断的实际情况。基于观察外观颜色易受主观个体的差异性和不敏感性的影响,故易对炮制程度判断产生偏差。近年来,有学者利用分光测色仪对中药炮制前后或不同基原的传统色泽评价进行量化分析,以探究饮片颜色值与其内在特征的客观

关联性,为饮片的快速识别及质量评价体系建立提供参考^[20-22]。本研究在完善川牛膝酒炙工艺研究的基础上,拟进一步通过分光测色技术对川牛膝酒炙前后进行颜色值数字化研究,以期建立颜色值标准范围并确立判别分析模型,为揭示酒川牛膝外观颜色与内在特征相关性和质量快速评价提供科学客观依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 39.
- [2] 施崇精, 王姗姗, 刘小妹, 等. 川产道地药材川牛膝现状探讨 [J]. 亚太传统医药, 2017, 13(22): 55-58.
- [3] 殷放宙, 吴晓燕, 李林, 等. 炮制火候对饮片颜色的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(16): 2252-2256.
- [4] 徐双美,鄢玉芬,陶明宝,等.不同炮制火候及方法对瓦楞子无机元素种类及含量的影响[J].时珍国医国药,2020,31(1):103-105.
- [5] 郑晓倩,徐超,金传山,等.基于颜色变化的"九蒸九晒"黄精炮制火候及内外在质量的相关性研究 [J].中草药,2022,53(6):1719-1729.
- [6] 梁乙川,郭换,刘素娟,等. 基于颜色变化的麸炒白术最佳炮制火候的客观量化判别 [J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(6): 12-15.
- [7] 施崇精,李雨珂,刘小妹,等. HPLC-DAD 多波长切换 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地川牛膝的药材 质量 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2431-2436.
- [8] 施崇精, 刘小妹, 程中琴, 等. HPLC 特征指纹图谱结合化学计量学比较不同生长年限川牛膝化学成分差异[J]. 中草药, 2018, 49(22): 5404-5409.
- [9] 施崇精,王姗姗,程中琴,等. HPLC 特征指纹图谱结合化学计量学比较川牛膝及其混淆品、掺混品化学成分差异 [J]. 中国中药杂志,2018,43(11):2313-2320.
- [10] 解达帅. 基于智能感官技术和模式识别的中药炮制"火候"的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [11] 贾玉倩, 袁诗农, 孙吴倩, 等. 基于 AHP-熵权法结合响应面法优化蛇床子酒炙工艺 [J]. 中药材, 2022, 45(10): 2352-2357.
- [12] 王莹, 孙嘉辰, 李霞, 等. 基于建立成分活性权重函数的当归酒炙工艺评价研究 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3014-3021.
- [13] 刘梦云,秦祎苒,刘秋怡,等.基于正交试验设计-熵权 逼近理想解排序法 (TOPSIS) 优选巴戟天酒炙工艺及 炮制前后药效对比研究 [J]. 中草药, 2021, 52(20): 6208-6215.
- [14] 童凯, 李素峰, 赖鑫, 等. 基于 GC-MS 的川牛膝酒制 前后化学成分变化分析 [J]. 中国现代中药, 2022,

24(1): 115-121.

- [15] 童凯. 川牛膝质量控制与华重楼资源利用的代谢组特征分析 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2017.
- [16] 童凯,李昭玲, 闫桑,等. 川牛膝酒炙和盐炙前后 HPLC 化学指纹图谱及其主要药效成分量变化研究 [J]. 中草药, 2016, 47(4): 580-584.
- [17] 徐芳辉, 胡志成, 易欣宜, 等. 5-羟甲基糠醛在中药质量标准中的应用现状 [J]. 中国医药导报, 2017, 14(15): 47-50.
- [18] 夏满琼,徐瑶,王玉霞,等. "焦三仙"炮制过程中 5- 羟甲基糠醛的含量变化研究 [J]. 中国医药导报, 2017, 14(19): 8-11.

- [19] 徐男, 时海燕, 孙蓉. 5-羟甲基糠醛的含量与大黄炭炮制程度及质量相关性研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(9): 2152-2154.
- [20] 王文辛, 孙媛, 殷放宙, 等. 基于颜色数字化和多成分测定的生、炙甘草质量快速评价研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(24): 6624-6632.
- [21] 甄臻, 李慧芬, 刘静, 等. 基于粉末和显微特征颜色数字化的生地黄与熟地黄判别 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7438-7446.
- [22] 于淼, 代悦, 刘涛涛, 等. 基于物质基础与颜色变化相关性分析的制何首乌古今炮制方法探讨 [J]. 中草药, 2023, 54(11): 3480-3488.

[责任编辑 郑礼胜]