

[8] 陈 静, 杨晓杰, 程加春, 等. 蒲公英多糖脱色方法的研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1128-1129.

[9] 毕元才. 大孔吸附树脂分离提纯冬虫夏草多糖的研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(24): 62-65.

[10] 刘红梅, 李 丹, 郭冠亚, 等. 大孔树脂对灰树花子实体酶解液色素的吸附性能研究[J]. 中成药, 2012, 34(11): 2248-2252.

[11] 冯 涛, 曹东旭, 高 辉, 等. 大孔吸附树脂对竹叶黄酮的吸附分离特性研究[J]. 广州食品工业科技, 2002, 19(1): 9-11.

[12] 陆 敏, 马海乐, 朱莉萍, 等. D301-G 大孔树脂吸附菊芋

多糖色素机理探究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(16): 58-63; 70.

[13] 刘 伟, 刘倩楠, 张 良, 等. 草莓多糖树脂法脱色工艺优化及其化学性质研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(10): 38-46; 51.

[14] 刘海霞, 牛鹏飞, 王 峰, 等. 大孔吸附树脂对大枣多糖提取液的脱色条件研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(10): 180-184.

[15] 黄贱苟, 徐满才, 李海涛, 等. D301 树脂对酚类的吸附热力学研究[J]. 离子交换与吸附, 2003, 19(1): 37-42.

柏子仁制霜工艺优化及脂肪油测定

王 琼¹, 刘 敬^{1*}, 曹 晖²

(1. 中山火炬职业技术学院健康产业学院, 广东 中山 528436; 2. 国家中药现代化工程技术研究中心, 广东 珠海 519085)

摘要:目的 优化柏子仁制霜工艺, 并测定脂肪油含量。**方法** 以总皂苷、脂肪油含量为评价指标, 炮制温度、炮制压力、炮制次数、炮制时间为影响因素, 正交试验优化炮制工艺。气相色谱法测定炮制前后脂肪油含量变化。**结果** 最佳条件为在 40 ℃、120 kPa 压力下炮制 3 次, 每次 60 min, 总皂苷、脂肪油含量分别为 0.32%、13.6%。炮制前后, 脂肪油含量无明显变化。**结论** 该方法稳定可行, 重复性好, 可用于柏子仁制霜工艺。
关键词: 柏子仁; 制霜工艺; 正交试验; 脂肪油; 气相色谱
中图分类号: R283 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)02-0542-04
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.02.038

柏子仁为柏科植物侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥成熟种仁, 味甘性平, 归心、肾、大肠经, 具有养心安神、润肠通便、止汗的功效。柏子仁霜在 2020 年版《中国药典》一部^[1]、1988 年版《全国中药炮制规范》^[2]及部分省地方规范^[3]中均有收载, 其最早见于宋代《博济方》^[4], 炮制目的在于减少脂肪油含量, 消除致呕、致泻副作用^[5]。目前, 有学者采用干燥箱制霜法^[6]、CO₂ 超临界制霜法^[7]等对柏子仁制霜方法进行研究, 并对不同制霜炮制方法进行了比较^[8], 但尚未见柏子仁霜压榨制霜工艺的研究报道。本研究采用正交试验对柏子仁压榨去油制霜工艺中的炮制压力、炮制温度、炮制次数、炮制时间等参数进行优化, 并采用气相色谱法 (GC) 对柏子仁和柏子仁霜所含脂肪油中成分进行分析, 可为制定相关炮制规范提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 制霜板 (实验室自制); 800Y 型多功能粉碎机

(永康市铂欧五金制品有限公司); DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司); BS124S 型分析天平 (德国 Sartorius 公司); SB-5200DTD 型超声波清洗器 (宁波新芝生物科技股份有限公司); TU-1810 型紫外-可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); GC-2010 PLUS 型气相色谱仪 (日本岛津公司)。
1.2 饮片 柏子仁由国家中药现代化工程技术研究中心提供, 批号 20170401, 经中山火炬职业技术学院赵斌博士鉴定为柏科植物侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥成熟果实, 碾去果壳及种皮, 取种仁备用。
1.3 试剂与药物 烘焙专用吸油纸 (厚 0.1 mm, 执行标准 GB4806.8-2016, 广州金洁沣纸业有限公司)。齐墩果酸对照品 (批号 PS013402, 成都普思生物科技股份有限公司, 纯度>98.0%); 40 种脂肪酸甲酯对照品 (批号 JA4-A, 美国 Nu-Chek 公司, 纯度 99.0%)。正庚烷为色谱纯; 氢氧化钠、三氟化硼、氯化钠、香兰素、冰醋酸、浓硫酸、乙醇、甲醇、石油醚

收稿日期: 2020-03-05
基金项目: 中医药行业科研专项基金项目 (201207004-10); 广东省教育厅教育科研特色创新类项目 (2017GGXJK071)
作者简介: 王 琼 (1974—), 男, 硕士, 副教授, 从事中药炮制及饮片质量标准研究。E-mail: 119570645@qq.com
* 通信作者: 刘 敬 (1980—), 女, 副教授, 从事中药质量标准研究。E-mail: 290914007@qq.com

(60~90 ℃)等为分析纯;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 总皂苷含量测定 采用香草醛-浓硫酸显色法^[9]测定。

2.1.1 对照品溶液制备 精密称取齐墩果酸对照品适量，甲醇制成每 1 mL 约含 100 μg 该成分的溶液，即得。

2.1.2 供试品溶液制备 精密称取柏子仁霜 2.0 g，装入滤纸筒置索氏提取器中，加石油醚（60~90 ℃）200 mL 回流提取 2 h，弃去提取液，取出，药渣连同滤纸筒挥干溶剂后移入具塞锥形瓶中，精密加入 50 mL 70% 乙醇，称定质量，超声（40 kHz、250 W）提取 30 min，冷却，70% 乙醇溶液补足减失的质量，倾出提取液，精密吸取提取液 25 mL，蒸干，残渣加 20 mL 水，转入分液漏斗中，加正丁醇提取 3 次，每次 10 mL，合并正丁醇液并蒸干，适量甲醇溶解残渣，转移至 10 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.1.3 线性关系考察 精密量取“2.1.1”项下对照品溶液（0.116 5 mg/mL）0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL，置于试管中，挥干溶剂，精密加入 1 mL 新鲜 5% 香兰素冰醋酸、5 mL 80% 硫酸，摇匀，85 ℃水浴加热 10 min，取出，冰水浴中冷却 15 min，取出，放置至室温，以相应试剂为空白，在 538 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标（*A*），对照品质量浓度为横坐标（*X*）进行回归，得方程为 *A*=8.004 1*X*+0.039 7（*r*=0.999 5），在 0.116 5 ~ 0.023 3 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.1.4 精密度试验 取“2.1.3”项下对照品溶液，于 538 nm 波长处测定吸光度 6 次，测得其 RSD 为 0.08%，表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取“2.1.3”项下对照品溶液，于 0、20、40、60、80、100、120 min 测定吸光度，测得其 RSD 为 1.04%，表明溶液在 120 min 内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验 称取同一批柏子仁霜 6 份，每份 2.0 g，按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，精密量取 1.0 mL，置于 10 mL 具塞试管中，按“2.1.3”项下方法测定吸光度，测得其 RSD 为 0.86%，表明该方法重复性良好。

2.1.7 加样回收率试验 精密称取同一批柏子仁霜 6 份，每份 1.0 g，精密加入对照品溶液（2.913 mg/mL）1.0 mL，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，精密量取 1.0 mL，置于 10 mL 具塞试管中，按“2.1.3”项下方法测定吸光度，计算回收率。结果，齐墩果酸平均加样回收率为 96.33%，RSD 为 1.71%。

2.2 制霜工艺优化

2.2.1 正交试验设计 在预试验基础上，以炮制温度（*A*）、炮制压力（*B*）、炮制次数（*C*）、炮制时间（*D*）为影响因素，每个因素 3 个水平，L₉（3⁴）正交试验优化炮制工艺，因素水平见表 1。

2.2.2 饮片炮制 取净柏子仁适量，碾成粗粉后分为 9 份，每份 20 g，将吸油纸平铺于制霜板上，粗粉均匀平铺

表 1 因素水平

水平	因素			
	<i>A</i> 炮制温度/℃	<i>B</i> 炮制压力/kPa	<i>C</i> 炮制次数/次	<i>D</i> 炮制时间/min
1	40	40	3	60
2	50	80	4	90
3	60	120	5	120

于吸油纸上，上层再覆盖吸油纸，之后盖上另一块制霜板（首次试验上下各用 6 张吸油纸，后续试验各用 3 张），调节螺母，使上下两块制霜板之间的压力达到表 1 中的炮制压力，置于规定温度的烘箱中，达到规定时间后取出，打开制霜板，取出粗粉，完成 1 次压制，同法操作至规定次数，取出，放凉，粉碎，收集过 80 目筛的细粉，即得柏子仁霜。

2.2.3 脂肪油提取 精密称取粗粉 1 g，置于索氏提取器中，加乙醚适量，回流提取 8 h 至脂肪油提尽，收集提取液，置于干燥至恒重的蒸发皿中，水浴低温蒸干，在 100 ℃下干燥 1 h，移到干燥器中冷却 30 min，精密称定质量。

2.2.4 数据处理 采用 Hassan 法对脂肪油、总皂苷含量进行归一化处理^[10]，前者取值越小越好，后者取值越大越好，计算公式为 $d_{\min} = (Y_{\max} - Y_i) / (Y_{\max} - Y_{\min})$ 、 $d_{\max} = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min})$ ，其中 *Y*_{min} 为指标中最小值，*Y*_{max} 为指标中最大值，总评“归一值”（*OD* 值）=（*d*₁ · *d*₂）^{1/2}，结果见表 2，方差分析见表 3。

表 2 试验设计与结果

试验号	因素				脂肪油/ %	总皂苷/ (mg·g ⁻¹)	<i>OD</i> 值
	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>			
1	1	1	1	1	19.56	2.98	0.34
2	1	2	2	2	17.43	3.10	0.64
3	1	3	3	3	13.55	3.15	0.87
4	2	1	2	3	26.23	2.91	0
5	2	2	3	1	19.25	3.14	0.63
6	2	3	1	2	19.22	3.21	0.72
7	3	1	3	2	21.74	2.96	0.24
8	3	2	1	3	13.05	3.05	0.67
9	3	3	2	1	12.72	3.11	0.82
<i>K</i> ₁	1.85	0.58	1.73	1.79	—	—	—
<i>K</i> ₂	1.35	1.94	1.46	1.60	—	—	—
<i>K</i> ₃	1.73	2.41	1.74	1.54	—	—	—
<i>R</i>	0.17	0.61	0.09	0.08	—	—	—

表 3 方差分析

来源	离均差平方和	自由度	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
<i>A</i>	0.05	2	4.00	>0.05
<i>B</i>	0.60	2	53.03	<0.05
<i>C</i>	0.02	2	1.48	>0.05
<i>D</i> (误差)	0.01	2	—	—

注：*F*_{0.05}(2,2)=19.00,*F*_{0.01}(2,2)=99.00。

2.2.5 最优工艺的确定 表 3 显示，各因素影响程度依次为炮制压力（*B*）>炮制温度（*A*）>炮制次数（*C*）>炮制时间（*D*），其中因素 *B* 有显著影响（*P*<0.05），最优工艺

为 $A_1B_3C_1D_1$ 。具体为取净柏子仁粗粉适量，吸油纸（上下各用 6 张）下垫上盖，调节螺母使 2 块制霜板之间的压力达到 120 kPa，于烘箱中恒温 40 ℃，静置 60 min 后取出，重复 2 次（上下各用 3 张吸油纸），取出柏子仁粗粉，放凉，粉碎，收集过 80 目筛的细粉，即得柏子仁霜。

2.3 验证试验 按“2.2.5”项下优化工艺制备 3 批柏子仁霜（命名为柏子仁霜 1~柏子仁霜 3），均为粒度均匀、疏松的淡黄色粉末，显油性，见图 1，总皂苷、脂肪油平均含量分别为 0.32%、13.6%，证明该工艺稳定可行，重复性好。



图 1 柏子仁炮制前后图

2.4 脂肪油含量测定 参照国标 GB5009.168—2016(《食品中脂肪酸的测定品中氨基酸的测定》)[11]测定。

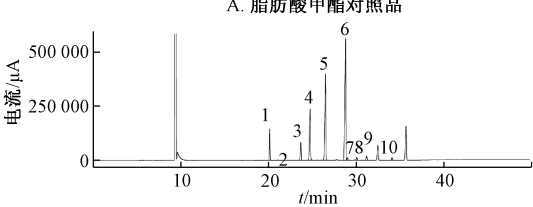
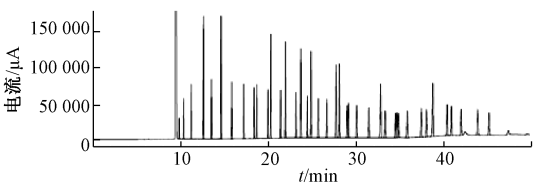
2.4.1 供试品溶液制备 按“2.2.3”项下方法提取脂肪油，取 100 mg 至烧瓶中，加入 2% 氢氧化钠甲醇溶液 8 mL，(80±1)℃ 水浴回流至油滴消失，从冷凝管上端加入 7 mL 15% 三氟化硼甲醇溶液，(80±1)℃ 水浴继续回流 2 min，停止加热，用冷水冲洗冷凝管，取下烧瓶，快速冷却，精密量取 20 mL 正庚烷至烧瓶中，摇动 2 min 左右，再加入适量饱和氯化钠水溶液，分层后吸取约 5 mL 正庚烷溶液至试管中，加入 3~5 g 无水硫酸钠，振摇 1 min 后静置 5 min，吸取上层溶液，即得。

2.4.2 色谱条件 HP-88 色谱柱(100 m×0.25 mm,0.2 μm)；进样口温度 240 ℃；检测器温度 250 ℃；程序升温 (130 ℃ 保持 1 min，10 ℃/min 升至 180 ℃，2.75 ℃/min 升至 215 ℃，5 ℃/min 升至 235 ℃，保持 10 min)；体积流量 1.2 mL/min；分流比 5：1。

2.4.3 结果分析 精密吸取“2.4.1”项下供试品溶液 1.0 μL，在“2.4.2”项色谱条件下进样测定，与混合脂肪酸甲酯对照图谱进行比对以确定脂肪酸归属，按“2.2.4”项下方法测定脂肪酸含量，结果见图 2、表 4。由此可知，生品、炮制品中均检出 10 种脂肪酸，其种类无明显变化，相对含量基本一致，即未受制霜工艺影响，其中油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯总含量约占 85%，其次是棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯，两者总含量约占 10%。

3 讨论

目前柏子仁霜的法定炮制方法是压榨去油制霜法，该方法也是柏子仁传统炮制方法。本研究通过测定柏子仁中脂肪油和总皂苷的含量，采用正交试验，优化了炮制温度、炮制压力、炮制次数和炮制时间等重要的制霜工艺参数，确定了最佳工艺，不仅符合柏子仁霜炮制规范，还为制定柏子仁霜饮片生产规范奠定了基础。



1. 棕榈酸甲酯 2. 珠光脂酸甲酯 3. 硬脂酸甲酯 4. 油酸甲酯 5. 亚油酸甲酯 6. 亚麻酸甲酯 7. 花生烯酸甲酯
8. 二十一烷酸甲酯 9. (11Z, 14Z) -11, 14-二十碳二烯酸甲酯 10. 芥酸甲酯

图 2 各成分 GC 色谱图

表 4 脂肪酸含量测定结果（%，n=2）

脂肪酸	生柏子仁	柏子仁霜 1	柏子仁霜 2	柏子仁霜 3
棕榈酸甲酯	5.80	5.94	5.79	5.83
珠光脂酸甲酯	0.09	0.09	0.08	0.09
硬脂酸甲酯	4.92	5.04	5.02	4.96
油酸甲酯	16.73	16.35	16.27	16.63
亚油酸甲酯	26.95	26.96	27.07	27.14
亚麻酸甲酯	41.77	41.78	42.05	41.57
花生烯酸甲酯	0.72	0.74	0.80	0.75
二十一烷酸甲酯	0.85	0.86	0.83	0.87
(11Z,14Z)-11,14-二十碳二烯酸甲酯	1.27	1.33	1.28	1.37
芥酸甲酯	0.92	0.93	0.96	0.95

柏子仁制霜的目的在于消除致呕和致泻的副作用^[12]，多用于虚烦失眠的脾虚患者。孙付军等^[13]研究发现，0~16% 含油量的柏子仁对小鼠便秘模型的相关指标均无明显影响，提示柏子仁霜的含油量控制在 16% 以下就不会产生致泻的副作用。另有研究表明柏子仁油能一定程度增加小鼠睡眠指数，柏子仁总皂苷能明显延长小鼠睡眠时间，提示柏子仁制成霜以后，安神作用较强的皂苷成分含量增加，引起致泻的脂肪油含量降低，符合古人对柏子仁制霜的目的^[14]。

采用压榨去油制霜法制备的柏子仁霜，脂肪油含量保持在 13.6% 左右，脂肪油成分在制霜过程中未受到破坏，各成分组成及其相对含量与生柏子仁均基本一致^[15]，符合柏子仁制霜炮制的要求。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版四部 [S]. 北京：中国医药科技出版社，2020：259.

[2] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范（1988 年版）[S]. 北京：人民卫生出版社，1988：168.

[3] 上海市食品药品监督管理局. 上海市中药饮片炮制规范（2008 年版）[S]. 上海：上海科学技术出版社，

2008; 294.

[4] 胥 戈, 边 宇. 柏子仁炮制历史沿革初探[J]. 中药饮片, 1992, 2(3): 18-21.

[5] 叶定江, 原思通. 中药炮制学辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 363.

[6] 王昭云. 柏子仁用干燥箱制霜法简介[J]. 中药通报, 1987, 12(5): 29.

[7] 李彦灵, 叶雪兰, 李卫民, 等. CO₂ 超临界制备的柏子仁油及柏子仁霜的安神功效研究[J]. 北方药学, 2011, 8(9): 30-31.

[8] 张 怀, 单国顺, 于晓黎, 等. 柏子仁制霜工艺比较研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(8): 1987-1989.

[9] 徐新刚, 闫雪生, 张 晶. 柏子仁生品及霜品中总皂苷的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(7): 833-835.

[10] 吴 伟, 崔光华, 陆 彬. 实验设计中多指标的优化: 星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8): 530-533.

[11] GB 5009.168-2016, 食品中脂肪酸的测定[S].

[12] 李天庆. 中药“霜”药的概念、制法及应用[J]. 甘肃中医学院学报, 2012, 29(3): 70-73.

[13] 孙付军, 宋卫国, 虞慧娟, 等. 不同含油量柏子仁药效学作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(9): 1836-1838.

[14] 孙付军, 陈慧慧, 王春芳, 等. 柏子仁皂苷和柏子仁油改善睡眠作用的研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2010, 5(5): 394-395.

[15] 徐新刚, 付加雷, 闫雪生. 柏子仁和柏子仁霜中脂肪酸的GC-MS 比较分析研究[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(9): 523-524.

蒜酶对同型半胱氨酸的催化裂解作用

哈米旦木·艾合买提江¹, 张婷婷¹, 任 锐¹, 敬 爽¹, 摆富叶¹, 李新霞^{1,2*}, 王 艳^{1,2*}
(1. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要: **目的** 考察蒜酶对同型半胱氨酸的催化裂解作用。**方法** 采用 HPLC 法测定同型半胱氨酸含量, 分析蒜酶对同型半胱氨酸的催化动力学。**结果** 同型半胱氨酸在 10~160 μmol/L 范围内线性关系良好($r=0.999\ 4$), 加样回收率 98.39%~101.26%, RSD 0.58%~1.61%。蒜酶可催化裂解同型半胱氨酸, 转化率达到 80% 以上, K_m 为 316.78 μmol/L, V_{max} 为 22.03 μmol/(L·min)。**结论** 蒜酶对同型半胱氨酸有催化裂解作用, 可为该酶类在心血管系统疾病预防和治疗中的应用提供可靠依据。

关键词: 蒜酶; 同型半胱氨酸; 催化裂解作用

中图分类号: R969.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)02-0545-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.02.039

同型半胱氨酸(Hcy)又称为高半胱氨酸, 是体内蛋氨酸和半胱氨酸代谢的中间产物^[1], 它是含硫氨基酸, 血浆中存在 2 种形式, 一种是还原型([H]-Hcy), 结构中含有巯基; 另一种是氧化型([O]-Hcy), 其结构是还原型以二硫键所形成的, 当血浆中其水平高于 15 μmol/L 时, 即可诊断为高同型半胱氨酸血症^[2]。研究表明, 高水平 Hcy 能够通过各种途径直接或间接的造成血管内皮细胞损伤, 增强血小板功能活性, 促使血栓形成, 影响低密度脂蛋白的氧化过程, 诱导和促进血管平滑肌细胞增殖^[3], 现已被公认为是心脑血管疾病的独立危险因素之一^[4-5], 并寻

找降低体内其水平的潜在药物对心血管系统疾病的诊断与防治具有重要意义。

大蒜及其制品在医药和保健品方面已得到普遍认可, 具有降血脂、预防动脉粥样硬化、抗血小板聚集等多种药理作用^[6-8], 在防治高同型半胱氨酸血症并冠心病、脑梗死等方面的临床及实验研究已有报道^[9-10]。蒜酶又称蒜氨酸裂解酶, 是二聚体糖蛋白^[11], 也是存在于大蒜中的内源酶, 能裂解蒜氨酸 C-S 键, 生成大蒜辣素和系列含硫化合物, 从而表现出大蒜特性^[11], 其适宜底物为 S-烷基-L-半胱氨酸亚砷类化合物, Hcy 结构与蒜酶的天然底物蒜氨酸结

收稿日期: 2021-04-07

基金项目: 新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室项目(XJDX1713); 新疆医科大学博士科研启动基金(2019-13)

作者简介: 哈米旦木·艾合买提江(1994—), 女(维吾尔族), 硕士, 从事现代药物分析技术及体内药物分析研究。Tel: 17690921361, E-mail: 2729349066@qq.com

* 通信作者: 李新霞(1968—), 女, 博士, 教授, 从事现代药物分析及体内药物分析研究。Tel: (0991) 4365034, E-mail: lxx6668@163.com

王 艳(1980—), 女, 博士, 副教授, 从事天然产物研究。E-mail: wangyan_1060@163.com