

白及粉末饮片品质评价研究

李一冲, 林琦, 陈嘉惠, 蔡栩填, 赵文昌, 王涛* (广东医科大学药学院, 广东天然药物研究与开发实验室, 广东东莞 523808)

摘要: **目的** 探讨白及粉末饮片中浸出物、SO₂及多糖含量测定方法。**方法** 参照2020年版中国药典, 采用热浸或冷浸法分析不同批次白及粉末饮片浸出物含量, 酸碱滴定法测定SO₂残留量; 采用硫酸-苯酚法测定样品中多糖含量。**结果** 10%乙醇冷浸法浸出物含量最高; 酸碱滴定法重复性的相对标准偏差(RSD)为1.2%, 加样回收率为80.89%~89.10%; 16.5~99.0 mg/L葡萄糖浓度与吸光度呈良好的线性关系, 线性方程为 $y=0.00889x-0.05159$, $r=0.9991$ 。**结论** 该方法操作简单、准确度高、重复性好, 为白及粉末饮片品质评价提供科学依据。

关键词: 白及; 饮片; 二氧化硫; 多糖

中图分类号: R 282.71; R 282.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-3610 (2023) 01-0011-05

Quality evaluation of *Bletilla striata* powder decoction pieces

LI Yi-chong, LIN Qi, CHEN Jia-hui, CAI Xu-tian, ZHAO Wen-chang, WANG Tao* (Guangdong Key Laboratory for Research and Development of Natural Drugs, Institute of Pharmacy, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China)

Abstract: **Objective** To analyze the assays of extract, sulfur dioxide and polysaccharides of *Bletilla striata* powder decoction pieces (BsPDP). **Methods** According to the Chinese Pharmacopoeia (2020 ed), contents of extract, residual sulfur dioxide, and polysaccharides in different batches of BsPDP were measured by hot/cold extraction, acid-base titration, and sulfuric acid-phenol method, respectively. **Results** The extract content was higher using cold extraction with 10% ethanol. The relative standard deviation (RSD) was 1.2%, and recovery of spiked sample was 80.89%~89.10% using acid-base titration. 16.5~99.0 mg/L glucose showed a good linear relationship with absorbance: regression equation $y=0.00889x-0.05159$, $r=0.9991$. **Conclusion** It is simple, accurate, and reproducible for evaluating the quality of BsPDP.

Key words: *Bletilla striata*; decoction pieces; sulfur dioxide; polysaccharide

中药粉末饮片不仅能够保留原药材的成分, 提高有效成分的溶出速率和利用率, 而且无需煎煮, 可直接外用, 既减少了用量, 又避免了对于贵重、珍惜药材资源的浪费。粉末饮片已得到广泛的临床应用, 如人参、三七、冬虫夏草等。随着生活节奏的加快和临床应用的需求, 中药粉末饮片有逐渐取代传统中药饮片和汤剂的趋势。白及主要药效成分为白及胶, 其含量高达55%以上^[1-2]。白及胶不但具有生肌止血等功效^[3-4], 而且在抗菌^[5-6]、抗癌^[7-8]和抗氧化^[9-10]等方面发挥出新的活性。近年来, 白及粉末饮片在临床上得到广泛应用。张永刚等^[11]将中药珍稀药材白及粉末饮片用于治疗

人体消化性溃疡, 获得了比传统中药饮片更为显著的临床疗效; 杨志勇等^[12]将复方白及粉用于治疗急性放射性食管炎, 疗效与常规西医治疗相当。浸出物含量一直以来是质量控制的一项研究指标, 现行版中国药典与地方炮制规范白及项下质量标准简单, 白及浸出物含量的限定和多糖含量的测定并未收载, 缺乏定量指标, 很难保证其质量控制。本实验建立了白及粉末饮片浸出物和多糖的含量测定方法, 以期作为中国药典与地方炮制规范的补充和提高, 旨在完善现行质量控制和评价方法与标准, 为科学评价药用白及粉末饮片的品质及临床用药提供参考依据。

收稿日期: 2022-08-23

基金项目: 2020年度广东医科大学博士学位人员科研启动基金(1026/4SG21250G), 创新训练项目(S202110571082, GDMU2021200), 广东医科大学学科建设项目(4SG21009G)

作者简介: 李一冲(2001-), 男, 在读本科, E-mail: L1816177923@163.com

通信作者: 王涛(1987-), 男, 讲师, E-mail: gdmumat@gdmu.edu.cn

1 材料和试剂

1.1 仪器与试剂

BSA124S 型电子天平(万分之一,德国赛多利斯公司);GZX-9140MBE 数显鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司);SKM 型数显恒温电热套(山东鄞城晨博实验设备有限公司);HH-S4 数显恒温水浴锅(金坛医疗仪器厂);LDV-2-PRO 数字式黏度计(上海尼润智能科技有限公司);GENESYS 10S UV-Vis 紫外/可见分光光度计(赛默飞世尔科技公司);99.999% 高纯氮(济南天海气体有限公司);蒸馏装置、滴定装置;无水乙醇、无水葡萄糖、无水亚硫酸钠、氢氧化钠、浓硫酸、苯酚、盐酸(国药集团化学试剂有限公司)为分析纯;超纯水。

1.2 样品

购自平嘉大药房、三众大药房、康利药店、国泰大药房、漱玉平民大药房、三九医药、宝仁康药店的 10 批白及药材切片(批号 140912、150215、150301、150823、130901、160101、141115、130801、150303235、131010)。如无特殊说明,样品批号依次对应 1~10 编号。所有样品经粉碎后过 120 目标准药筛备用。

1.3 方法

1.3.1 浸出物条件考察 (1) 浸出溶剂的考察(热浸法):取白及粉末饮片约 2.5 g,精密称定,参照 2020 年版中国药典四部(通则 0212)热浸法进行提取溶剂条件的考察。(2) 浸出溶剂的考察(冷浸法):取白及粉末饮片约 4.0 g,精密称定,参照 2020 年版中国药典四部(通则 0212)冷浸法进行提取溶剂条件的考察。

1.3.2 SO₂ 含量测定 (1) 参照 2020 年版中国药典(通则 2331)项下所收载的中药材或饮片 SO₂ 残留量酸碱滴定测定法,测定白及饮片中 SO₂ 残留量,规定不得超过 400 mg/kg。(2) 回收率试验:取白及粉末饮片 6 份,每份约 10 g,精密称取 NaHSO₄ 标准品(1 g NaHSO₄ 标准品相当于 0.507 g SO₂)按“1.3.2 (1)”方法测定,计算回收率。(3) 重复性试验:按“1.3.2 (1)”方法对白及粉末饮片样品平行测定 6 份,计算 SO₂ 含量的 RSD。(4) 样品 SO₂ 含量测定:对 10 批次的白及粉末饮片样品依法测定。

1.3.3 多糖含量测定 (1) 对照品溶液的配制:精密称取干燥至恒重的无水葡萄糖对照品 16.5 mg,置于 100 mL 容量瓶中,加水溶解并定容,摇匀,即得对照品溶液。(2) 供试品溶液的配制:精密称取白及粉末饮片 5.0 g,置于圆底烧瓶中,加 100 mL 水回流提取 3 h,

滤过,残渣及烧瓶用热水洗涤 3 次,每次 10 mL,合并滤液和洗液,放冷,转移至 250 mL 量瓶中,加水定容,摇匀,滤过。精密量取续滤液 9 mL 加入 95% 乙醇使其醇浓度为 80%,摇匀,静置 15 h,离心,倾去上清液,沉淀加水溶解,置 100 mL 量瓶中,加水定容,摇匀,即得。(3) 标准曲线的制备:精密吸取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 葡萄糖标准溶液,置于具塞玻璃试管中,加水补足到 2 mL,分别加入 5% 的苯酚溶液 1 mL,摇匀,迅速加入 5 mL 浓硫酸,置沸水浴中 15 min,取出,冷却至室温,以相应溶剂作空白对照,于 490 nm 下测定吸光度,绘制标准曲线。(4) 含量计算:样品中多糖含量以质量分数 ω 计,国标 SN/T 4260-2015,计算公式: $\omega = \frac{m_1 \times v_1}{m_2 \times v_2} \times 0.9 \times 10^{-4}$,其中 m_1 : 从标准曲线上查得样品测定液中含糖量,单位 μg ; v_1 : 样品定容体积,单位 mL; v_2 : 比色测定时所移取样品测定液的体积,单位 mL; m_2 : 样品质量,单位 g; 0.9: 葡萄糖换算成葡聚糖的校正系数。(5) 精密度试验:精密吸取 6 份对照品溶液,每份 1.0 mL,按“1.3.3 (3)”测定吸光度,计算相对标准偏差(RSD)。(6) 重复性试验:取同一批白及粉末饮片样品 6 份,按“1.3.3 (2)”制备供试品溶液,各取每份溶液 1.0 mL,按“1.3.3 (3)”测定吸光度,计算 RSD。(7) 稳定性试验:精密移取上述供试品溶液 1.0 mL,按“1.3.3 (3)”测定,每隔 30 min 记录 1 次吸光度值,计算 RSD。(8) 回收率测定:精密量取已知白及粉末饮片多糖含量(0.125 8 g/L)的样品 6 份,每份 1.0 mL,置具塞试管中,分别加入 1.0 mL (0.0629 g/L、0.125 8 g/L、0.188 7 g/L)的葡萄糖对照品溶液,加水补足到 2 mL,按“1.3.3 (3)”测定吸光度,计算回收率。

2 结果

2.1 浸出物条件考察

通过对比热浸法和冷浸法发现,醇溶性浸出物含量整体趋势随乙醇浓度减小而增大;在冷浸法中,水溶性和 10% 乙醇浸出物含量高于热浸法相对应溶媒浸出的含量,见表 1。因此,实验最终选择 10% 乙醇作为浸出溶剂,冷浸法作为浸出方法测定不同批次白及粉末饮片的浸出物含量。

2.2 样品测定

10 批白及粉末饮片样品 10% 醇浸出物含量为 50.2%~65.1%。同为贵州产地的白及浸出物含量有明显差异;四川产地的白及浸出物含量最低。见表 2。

表1 热浸法与冷浸法提取溶剂的考察

(n=3)

方 法	提取溶剂	95% 乙醇	85% 乙醇	70% 乙醇	50% 乙醇	30% 乙醇	10% 乙醇	水
热浸法	浸出物含量/%	10.3	18.3	19.6	29.7	33.6	44.7	48.5
	RSD/%	1.4	1.7	1.3	0.9	0.5	1.2	1.1
冷浸法	浸出物含量/%	5.7	13.3	17.2	22.5	42.5	54.2	51.1
	RSD/%	1.0	1.5	1.2	1.6	1.0	0.4	1.5

表2 白及粉末饮片浸出物含量

(n=3)

编号	样品	浸出物含量/%	RSD/%
1	140912 (贵州)	52.2	0.8
2	150215 (贵州)	54.2	0.4
3	150301 (贵州)	53.1	3.1
4	150823 (贵州)	56.3	0.5
5	130901 (贵州)	65.1	1.6
6	160101 (安徽)	57.8	2.2
7	141115 (湖南)	61.6	1.3
8	130801 (四川)	50.2	1.1
9	150303235 (贵州)	53.8	0.7
10	131010 (贵州)	59.9	0.8

2.3 SO₂ 含量测定

白及粉末饮片中SO₂回收率测定结果见表3。

2.3.1 方法学考察 重复性试验RSD=0.42%，方法重复性良好；SO₂平均回收率为85.84%，RSD=3.4%，回收率试验符合要求。

2.3.2 样品SO₂含量测定 对10批次的白及粉末饮片样品依法测定，测定结果见表4。SO₂残留量结果均在12.66~363.89 mg/kg，虽未超过2020版中国药典（通则2331）有关SO₂残留量的规定，但白及在炮制过程中普遍存在SO₂熏蒸现象。贵州产地的白及样品（1~5、9、10）SO₂残留量差异较大，最高值与最低值相差29倍；来自安徽、湖南、四川（6、7、8）产地的样品SO₂残留量均高于100 mg/kg，说明白及使用硫磺熏蒸的情况比较普遍。

2.4 多糖含量测定

在490 nm处测定吸光度，以吸光度值为纵坐标，

葡萄糖质量浓度为横坐标绘制标准曲线。线性方程： $y=0.00889x-0.05159$ ， $r=0.9991$ 。葡萄糖质量浓度在16.5~99.0 mg/L内，与吸光度呈良好的线性关系（图1）。

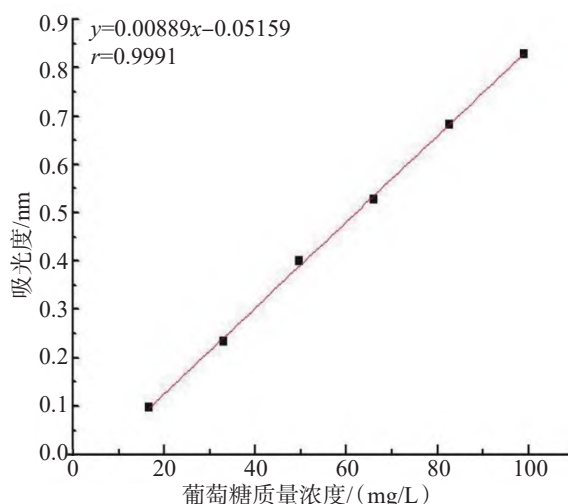


图1 葡萄糖标准曲线

2.4.1 方法学考察 精密度试验RSD=1.03%，方法精密度符合测定要求；重复性试验RSD=0.42%，方法重复性良好；稳定性试验RSD=0.47%，表明该方法在3 h内稳定性良好。

2.4.2 回收率测定 多糖含量加样回收试验结果中，平均回收率为99.89%，RSD为2.54%，回收率试验符合要求，见表5。

2.4.3 样品含量测定 10批白及样品中多糖的含量在25.4%~36.3%之间，含量存在明显差异，贵州产地（1~5、9、10）白及多糖含量较高，见表6。

表3 白及粉末饮片中SO₂回收率实验结果

(n=6)

序号	样品中SO ₂ /mg	加入亚硫酸钠量以SO ₂ 计/mg	测得SO ₂ 含量	回收率/%	RSD/%
1	3.673	3.549	6.752	86.76	3.4
2	3.752	3.805	6.830	80.89	
3	3.771	3.824	7.112	87.37	
4	3.405	3.448	6.245	82.37	
5	3.626	3.650	6.857	88.52	
6	3.796	3.853	7.229	89.10	

表4 SO₂含量测定

(n=3)

编 号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
mg/kg	47.87	83.65	99.13	53.76	16.80	148.21	106.43	118.87	363.89	12.66
RSD/%	1.7	1.6	1.1	0.7	1.0	0.5	0.6	1.4	2.1	1.5

表5 加样回收试验结果

(n=6)

序号	样品中白及多糖含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	RSD/%
1	0.1258	0.0629	0.1867	96.82	2.54
2	0.1258	0.0629	0.1870	97.30	
3	0.1258	0.1258	0.2536	101.59	
4	0.1258	0.1258	0.2560	103.50	
5	0.1258	0.1887	0.3140	99.74	
6	0.1258	0.1887	0.3152	100.37	

表6 10批白及粉末饮片样品多糖含量测定结果

(n=3)

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
多糖含量/%	32.9	28.2	30.8	36.3	35.7	27.8	26.1	25.4	31.8	35.9
RSD/%	1.1	0.7	0.4	0.5	1.2	1.6	0.8	0.5	1.7	2.0

3 讨论

白及粉末饮片浸出物含量是鉴别中药饮片真伪优劣的标准,同时也是衡量白及粉末饮片品质的重要指标。2020版中国药典和地方标准中尚未见对白及和白及粉末饮片浸出物含量的规定,为了更好地评价白及粉末饮片的质量,本实验对白及粉末饮片浸出物测定方法进行了考察。本实验选择不同浓度乙醇及水作为浸出溶剂,热浸和冷浸作为浸出方法。实验结果表明,冷浸法10%乙醇浸出物含量最高。所以本实验白及粉末饮片浸出物测定采用醇溶性浸出物测定法项下冷浸法,用10%乙醇作溶剂。

由测定结果可知,不同地区白及粉末饮片浸出物含量存在一定差异。湖南产地白及粉末饮片浸出物含量高于贵州产地白及粉末饮片浸出物含量的平均值。地域生境的不同可能是造成白及粉末饮片浸出物含量差异的关键因素。除此之外,不同采收茬次、不同炮制方法、贮藏条件等因素也会对白及粉末饮片浸出物含量造成影响。

硫熏在药材加工过程中普遍存在。虽然实验结果中不同产地和不同批次之间的SO₂残留量均未超过药典标准,但是硫熏一定程度上反映了白及饮片的质量优劣。如果按现行标准检测,市面流通白及饮片都符合标准,存在一定的局限性。因此,建议将“SO₂残留量”作为白及饮片的必检项目且含量不得过100 mg/kg。此外,上述湖南产地白及粉末饮片浸出物含量的增加是否因为硫熏造成的,尚待进一步研究。

一般质量评价研究,主要选择一个或两个主要成分作为评价指标。白及块茎中萜类、菲类、联苄类等化合物含量较低,可控性差,不适合作为质量评价指标。多糖是白及的主要成分,也是发挥药效的重要物质基础。因此以多糖作为白及粉末饮片质量评价具有重要

意义。从测定结果得出,10批白及粉末饮片多糖质量分数为25.4%~36.3%,贵州产地白及样品多糖含量相对最高且较为稳定,表明地域差异与生长环境、不同炮制方式等因素影响其内在质量。相对于文献报道中单化合物{1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯}含量测定的方法,该方法简便快速,检测成本低,易重复,结果准确可靠^[16-17]。虽然本方法中苯酚易氧化,但所用试剂均为现配现用,显色稳定对实验结果并无影响。对比研究,白及多糖可以作为白及粉末饮片质量评价指标并针对多糖含量波动范围设定合理的质量控制标准。

根据研究结果和综合分析,建议将白及粉末饮片浸出物含量和白及多糖含量列入白及和白及粉末饮片质量评价标准,同时降低SO₂检测限或禁用硫熏,提倡白及药材直接加工饮片,以保证白及粉末饮片临床用药的有效性和合理性。

参考文献:

- [1]陶阿丽,金耀东,刘金旗,等.中药白芨化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J].江苏农业科学,2013,41(11):6-9.
- [2]汤逸飞,阮川芬,应晨,等.白及属植物化学成分与药理作用研究进展[J].中草药,2014,45(19):2864-2872.
- [3]DONG L, LIU X X, WU S X, et al. Rhizoma Bletillae polysaccharide elicits hemostatic effects in platelet-rich plasma by activating adenosine diphosphate receptor signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 130: 110537-110542.
- [4]CHEN J K, LV L Y, LI Y, et al. Preparation and evaluation of Bletilla striata polysaccharide/graphene oxide composite hemostatic sponge[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 130: 827-835.
- [5]JIANG S, WAN K, LOU H Y, et al. Antibacterial bibenzyl derivatives from the tubers of Bletilla striata[J]. Phytochemistry, 2019, 162: 216-223.
- [6]JIANG S, CHEN C F, MA X P, et al. Antibacterial stilbenes from the tubers of Bletilla striata[J]. Fitoterapia, 2019, 138:

104350-104354.

- [7] NIU J F, WANG S P, WANG B L, et al. Structure and anti-tumor activity of a polysaccharide from *Bletilla ochracea* Schltr[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 154: 1548-1555.
- [8] 陈思思, 吴蓓, 谭婷, 等. 白及多糖BSP-1的分离纯化、结构表征及抗肿瘤活性研究[J]. *中草药*, 2019, 50(8): 1921-1926.
- [9] QU Y, LI C X, ZHANG C, et al. Structural characterization and antioxidant activities of *Bletilla striata* polysaccharide extracted by different methods[J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 266: 118149-118161.
- [10] CHEN Z Y, ZHAO Y, ZHANG M K, et al. Structural characterization and antioxidant activity of a new polysaccharide from *Bletilla striata* fibrous roots[J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 227: 115362-115369.
- [11] 张永刚, 张竞. 白及粉治疗消化性溃疡两例例析[J]. *实用中医内科杂志*, 2003, 17(1): 52.
- [12] 杨志勇, 李书芹, 杜雪菲, 等. 复方白及粉治疗急性放射性食管炎的疗效分析[J]. *辽宁中医杂志*, 2016, 43(9): 1915-1916.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [14] 刘金梅, 安兰兰, 刘刚, 等. 白及化学成分和药理作用研究进展与质量标志物预测分析[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(6): 28-37.
- [15] 孔伟华, 徐建波, 崔琦, 等. 白及化学成分、药理作用和白及多糖提取工艺的研究进展[J]. *中医药信息*, 2021, 38(9): 69-78.
- [16] 赵宁, 李伟泽, 张倩, 等. 白及多糖提取工艺优化[J]. *应用化工*, 2015, 44(12): 2212-2215.
- [17] 张雪娇, 刘春叶. 苯酚-硫酸比色法测定白芨胶中的多糖含量[J]. *化学研究与应用*, 2014, 26(5): 757-760.

~~~~~  
(上接第10页)

- [7] 马凯, 胡红霞, 于婧, 等. 双酶切和同源重组方法构建pMIR-reporter 载体的比较 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2015, 10(6): 495-499.
- [8] 崔红晶, 周涛, 宋浩昌, 等. 酶连接介导PCR 法构建酵母PMT3 基因缺失菌株[J]. *牡丹江医学院学报*, 2018, 39(1): 1-3, 23.
- [9] 熊兵, 杨益, 蒋伶活. 酿酒酵母中SSK2 基因与其他镉耐受相关基因之间的双基因缺失菌株构建[J]. *微生物学杂志*, 2016, 36(1): 49-56.
- [10] ZHAO W, FANG B X, NIU Y J, et al. Nar1 deficiency results in shortened lifespan and sensitivity to paraquat that is rescued by increased expression of mitochondrial superoxide dismutase [J]. *Mech Ageing Dev*, 2014, 138: 53-58.
- [11] 郭东豪, 钟远, 苗雅. 自噬与衰老的研究进展[J]. *老年医学与保健*, 2017, 23(6): 585-587.
- [12] KLIONSKY D J, ABDELMOHSEN K, ABE A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition) [J]. *Autophagy*, 2016, 12(1): 1-222.
- [13] KAINZ K, TADIC J, ZIMMERMANN A, et al. Methods to assess autophagy and chronological aging in yeast[J]. *Methods Enzymol*, 2017, 588: 367-394.
- [14] 崔晓静, 崔红晶, 刘新光. 酵母细胞自噬检测方法的研究进展[J]. *国际老年医学杂志*, 2022, 43(5): 612-615.
- [15] KLIONSKY D J. Monitoring autophagy in yeast: The Pho8Delta60 assay[J]. *Methods Mol Biol*, 2007, 390: 363-371.
- [16] NODA T, KLIONSKY D J. The quantitative Pho8Delta60 assay of nonspecific autophagy [J]. *Methods Enzymol*, 2008, 451: 33-42.
- [17] LI P, GE J, GAO Y, et al. A seamless gene deletion method and its application for regulation of higher alcohols and ester in *Baijiu Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 6723849.
- [18] COLLOPY P D, COLOT H V, PARK G, et al. High-throughput construction of gene deletion cassettes for generation of *Neurospora crassa* knockout strains[J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 638: 33-40.
- [19] MORAIS A, TERZIAN A C, DUARTE D V, et al. The eukaryotic translation initiation factor 3 subunit L protein interacts with Flavivirus NS5 and may modulate yellow fever virus replication [J]. *Virology*, 2013, 10: 205.